Cours Microbiologie Générale

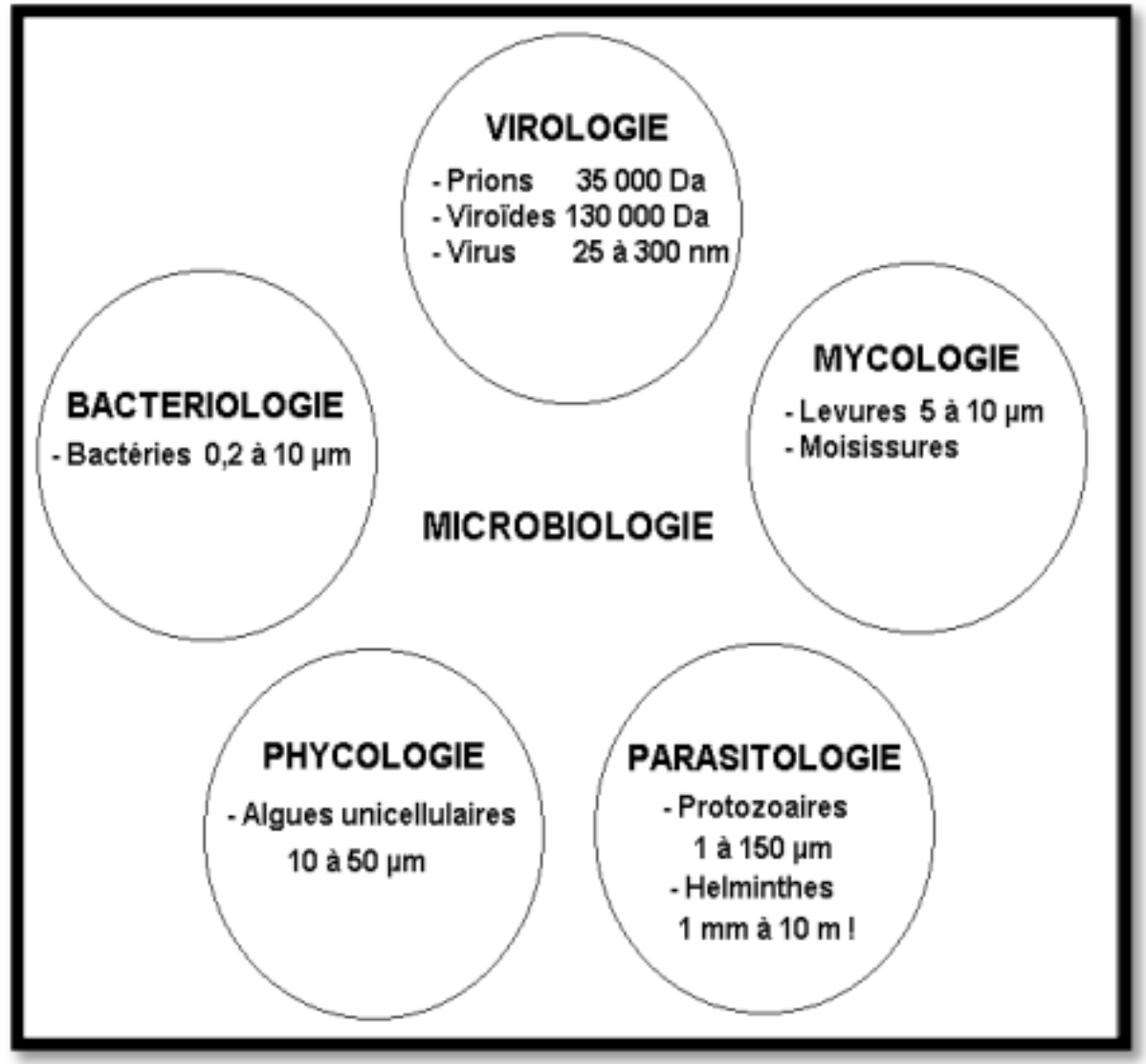
Dr MBEHANG NGUEMA Pierre Philippe

Chargé de Recherche Institut de Recherche en Ecologie tropicale (IRET)

INTRODUCTION

- **DEFINITIONS DE MICROORGANISMES, MICROBE ET DE BACTERIE :**
  - **MICROBIOLOGIE :**

- La microbiologie est une sous-discipline de la biologie basée sur l'étude des micro-organismes et des relations avec leur environnement. La microbiologie est la science des microbes et la doctrine des micro-organismes qui ne peuvent être reconnus à l'œil nu tels que les archées, bactéries, champignons, protozoaires, algues unicellulaires (levures), microalgues et virus. La microbiologie est une branche de la biologie et de la médecine. Le microbiologiste en est le spécialiste. La microbiologie demande l'emploi d'instruments de


VIROLOGIE
- Prions 35 000 Da
- Viroïdes 130 000 Da
- Virus 25 à 300 nm
BACTERIOLOGIE
- Bactéries 0,2 à 10 µm
MYCOLOGIE
- Levures 5 à 10 µm
- Moisissures
MICROBIOLOGIE
PHYCOLOGIE
- Algues unicellulaires
10 à 50 µm
PARASITOLOGIE
- Protozoaires
1 à 150 µm
- Helminthes
1 mm à 10 m !

- **MICROORGANISMES**

- Les microorganismes (« microbes », « germes ») constituent un groupe extrêmement diversifié d’organismes microscopiques, unicellulaires et répartis dans les trois domaines du vivant (bactérie, archées et eucaryote). Ils forment un ensemble d’organismes vivants microscopiques, invisibles à l’œil nu. Ils se distinguent les uns des autres par leur forme, leur taille et leur mode de vie, par leur morphologie, leur physiologie, leur mode de reproduction et leur écologie.
    - **MICROBE :**
- Organisme unicellulaire appartenant au règne bactérien (bactéries), au règne végétal (champignons microscopiques) ou au règne animal (protozoaires).
    - **BACTERIE :**
- Une bactérie est un micro-organisme ubiquiste, unicellulaire et sans noyau (procaryote) dont le génome est constitué d'ADN.

- En microbiologie, les recherches portent sur les aspects biochimiques et écologiques des micro-organismes. Les micro-organismes pathogènes (agents pathogènes) ont traditionnellement été le domaine de recherche de la microbiologie médicale et vétérinaire. Les méthodes de la Cytologie (science et enseignement des cellules), de la Génétique, de la Biochimie, de l'Ecologie et de la systématique sont utilisées. En raison de la petite taille des micro-organismes, la microscopie et les méthodes de leur culture jouent un rôle important. Les microscopes, réellement apparus au 17 siècle, ont permis le développement de la microbiologie.

- La microbiologie a été classiquement définie comme étant l'étude d'organismes trop petits pour être vus à l'œil nu. La microbiologie est principalement concernée par des organismes d'un diamètre inférieur à un millimètre, qui sont invisibles et doivent être examinés au microscope. Une variété extraordinaire d'organismes notamment les virus, les bactéries, beaucoup d'algues, de mycètes et les protozoaires sont dans cette catégorie. Cependant, d’autre organismes quoique visibles à l'œil nu, sont étudiées par des microbiologistes en particulier des algues et des mycètes.

- Les difficultés d’établir des limites à la microbiologie conduisirent Roger Stanier (1916- 1982) à définir la microbiologie non seulement en termes de taille, mais encore en termes de techniques utilisées. Un microbiologiste isole d'abord un micro-organisme spécifique d'une population et le cultive. Donc, la microbiologie utilise des techniques telles que la stérilisation et l'emploi de milieux de culture nécessaires à l’isolement et à la croissance des

- **1. Historique**
- **1.1. Découverte des microorganismes**
- L’existence et le rôle des microorganismes dans les maladies ont été soupçonnés avant même leur découverte. Le philosophe romain Lucrèce (à peu près 98-55 av. J-C) et le médecin Girolamo Fracastoro (1478-1553) avaient suggéré que des êtres vivants invisibles provoquaient les maladies. Les premières observations des microorganismes ont été réalisées par le Hollandais Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723), qui construisait des microscopes simples, composés de lentilles doubles convexes maintenues entre deux plaques d'argent (Figure I.1). Ses microscopes agrandissaient de 50 à 300 fois et rendait visible des bactéries et des protozoaires.

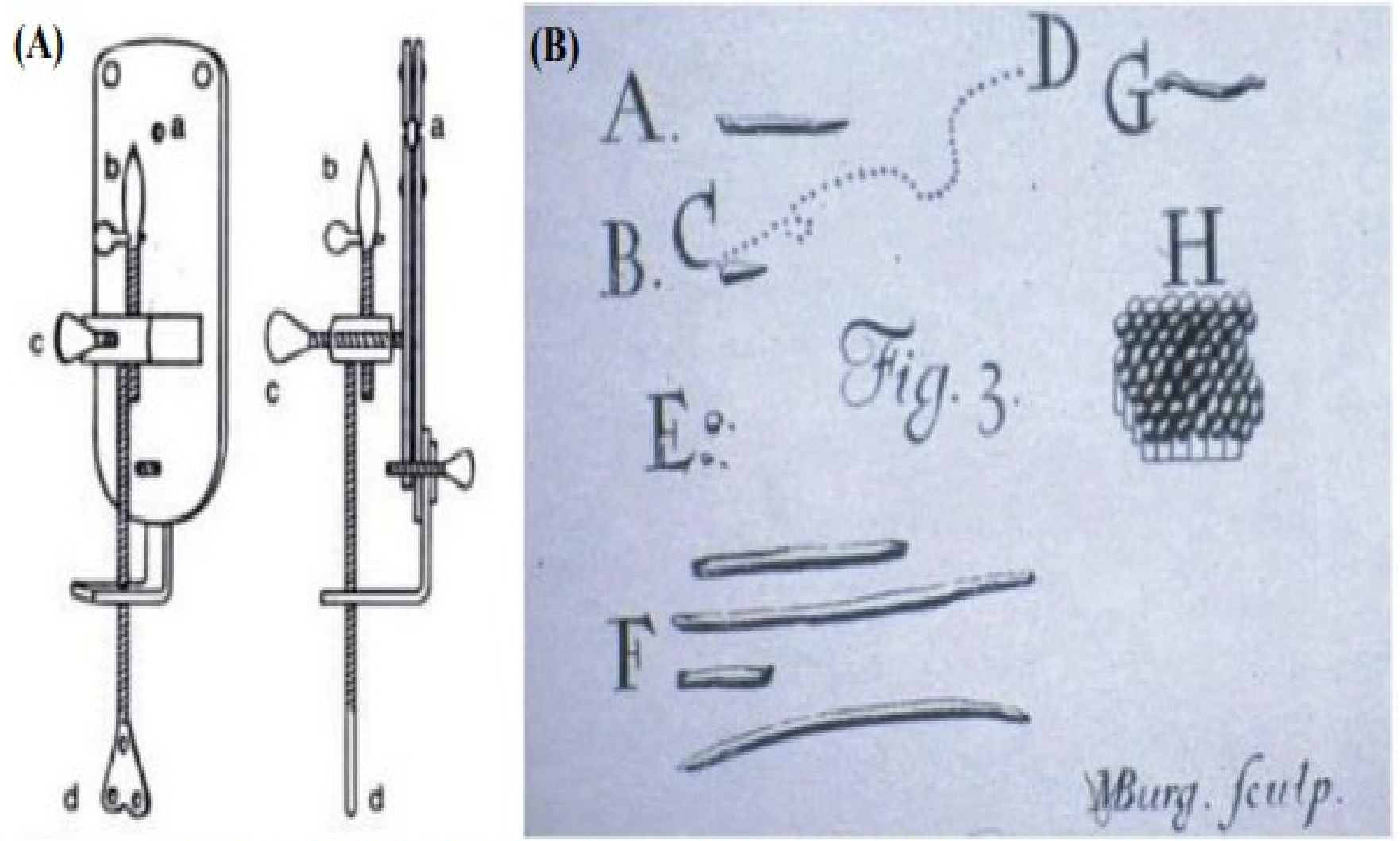


Figure I.1 : Le microscope d'Antonie van Leeuwenhoek. **(A)** : Dessin d'un des microscopes montrant les lentilles, a ; le support pointu b : et les vis de mise au point, c et d ; **(B)** : Bactéries dessinées par van Leeuwenhoek.

- **Débat sur la génération spontanée**
- L'idée que la vie puisse émerger du monde inerte est vieille comme le monde. Les civilisations antiques croyaient que les pucerons sortaient des bambous, et que la boue pouvait engendrer des vers ou des grenouilles. Cette théorie de la génération spontanée, due à Aristote (384-322 av. J-C), traversera le moyen âge et sera encore évoquée à la Renaissance. La théorie de la génération spontanée sera mise en doute pour la première fois par Francesco Redi (1626-1697), qui prouve en 1668 que la production d'asticots par de la viande en décomposition était due à la présence d'œufs de mouches el la viande ne générait pas spontanément des asticots comme on le pensait précédemment.

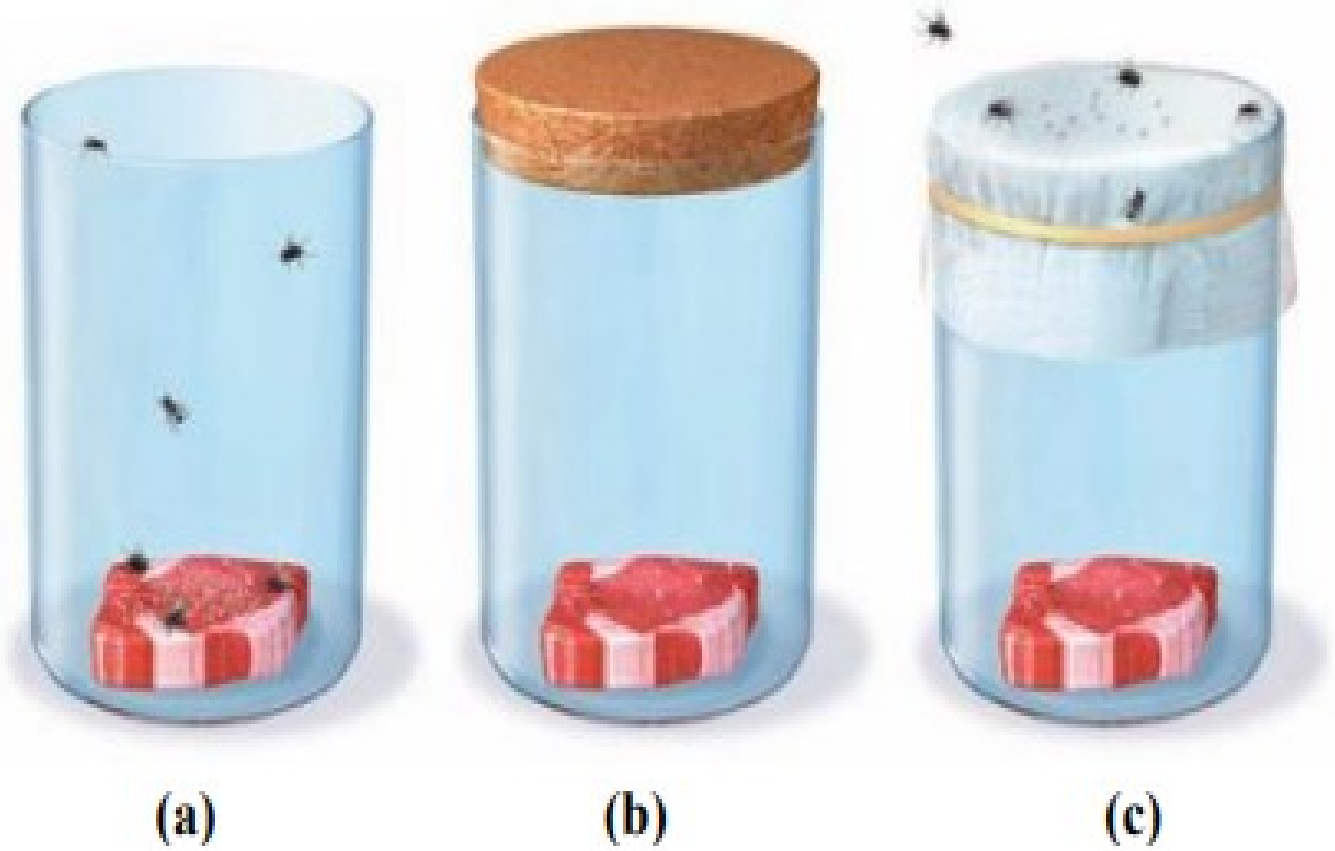


Figure I.2 : Les expériences de Redi réfutant la génération spontanée. Le premier récipient n'était pas couvert (a), le second était couvert (b) et le troisième d'une fine gaze qui pouvait écarter les mouches (c). Celles-ci déposèrent leurs œufs sur la viande non couverte et les asticots se développèrent. Les deux autres morceaux de viande ne produisirent pas spontanément d'asticots.

- La découverte des micro-organismes par van Leeuwenhoek renouvela la controverse scientifique entre les partisans de la biogenèse et ceux de l'abiogenèse. En 1748, John Needham (1713-1781) faisait bouillir du bouillon de mouton et bouchait hermétiquement les flacons. Par la suite, de nombreux flacons se troublaient, ils contenaient des micro-organismes. Il pensa que la matière organique possédait une force vitale qui pouvait conférer les propriétés de vie à la matière non vivante (Figure I.3A). Quelques années plus tard, Lazzaro Spallanzani (1729-1799) améliora les expériences de Needham en scellant d'abord les flacons de verre contenant le bouillon et les germes.

- Si les flacons scellés étaient placés dans de l'eau bouillante pendant 3/4 d'heure, il n'y avait pas de croissance tant que les flacons restaient fermés. Il suggéra que l'air transportait les germes dans l'infusion, mais aussi que l'air externe était nécessaire à la croissance des "animaux" déjà présents dans l'infusion (Figure I.3B). Bien que Spallanzani ait invalidé la théorie de l'abiogenèse, nombreux furent ceux qui ne le crurent pas, sous prétexte que Spallanzani avait fait bouillir la viande si longtemps qu'il tua "le pouvoir vital" qu'elle contenait.

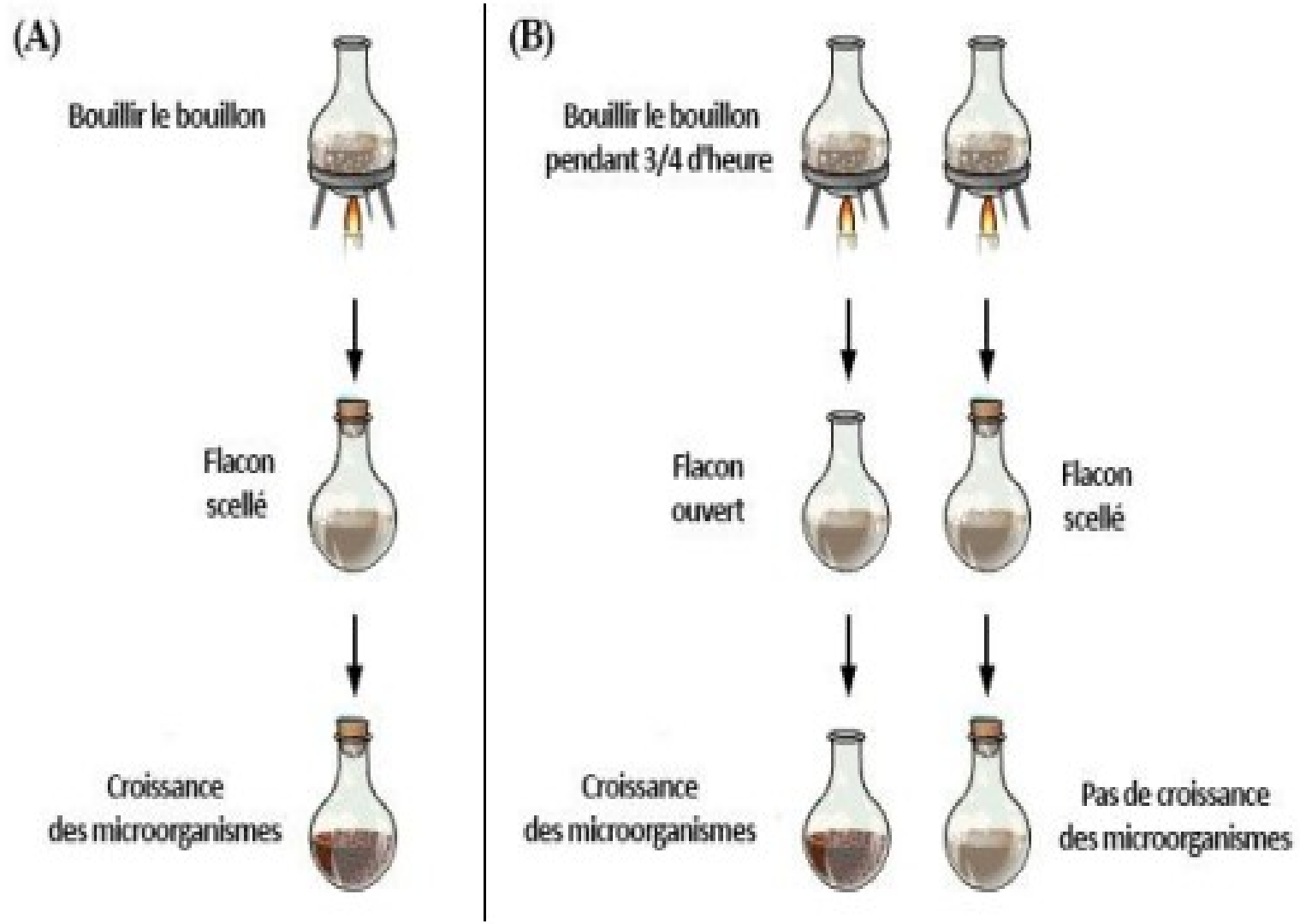


Figure I.3 : Les expériences de John Needham (A) et de Lazzaro Spallanzani (B) sur la génération spontanée.

- En 1850, Luis Pasteur (1822-1895) apporta la preuve définitive pour le refus de la génération spontanée. Il filtra d'abord l'air au travers de coton et trouva que des objets ressemblant à des spores végétales y étaient piégés. Si le morceau de coton était placé dans un milieu stérile après que de l'air y ait été filtré, la croissance microbienne apparaissait. Pasteur fit ensuite bouillir des solutions nutritives dans les flacons en col de cygne pendant quelques minutes puis les refroidit. Aucune croissance n’apparut même si les contenus des flacons avaient été exposés à l'air, Pasteur fit observer qu'il n'y avait pas de croissance parce que la poussière et les germes avaient été piégés sur les bords des goulots courbes. Si les goulots étaient cassés ou le bouillon stérile était ramené à la partie recoupée du col, la croissance commençait immédiatement (Figure I.4).

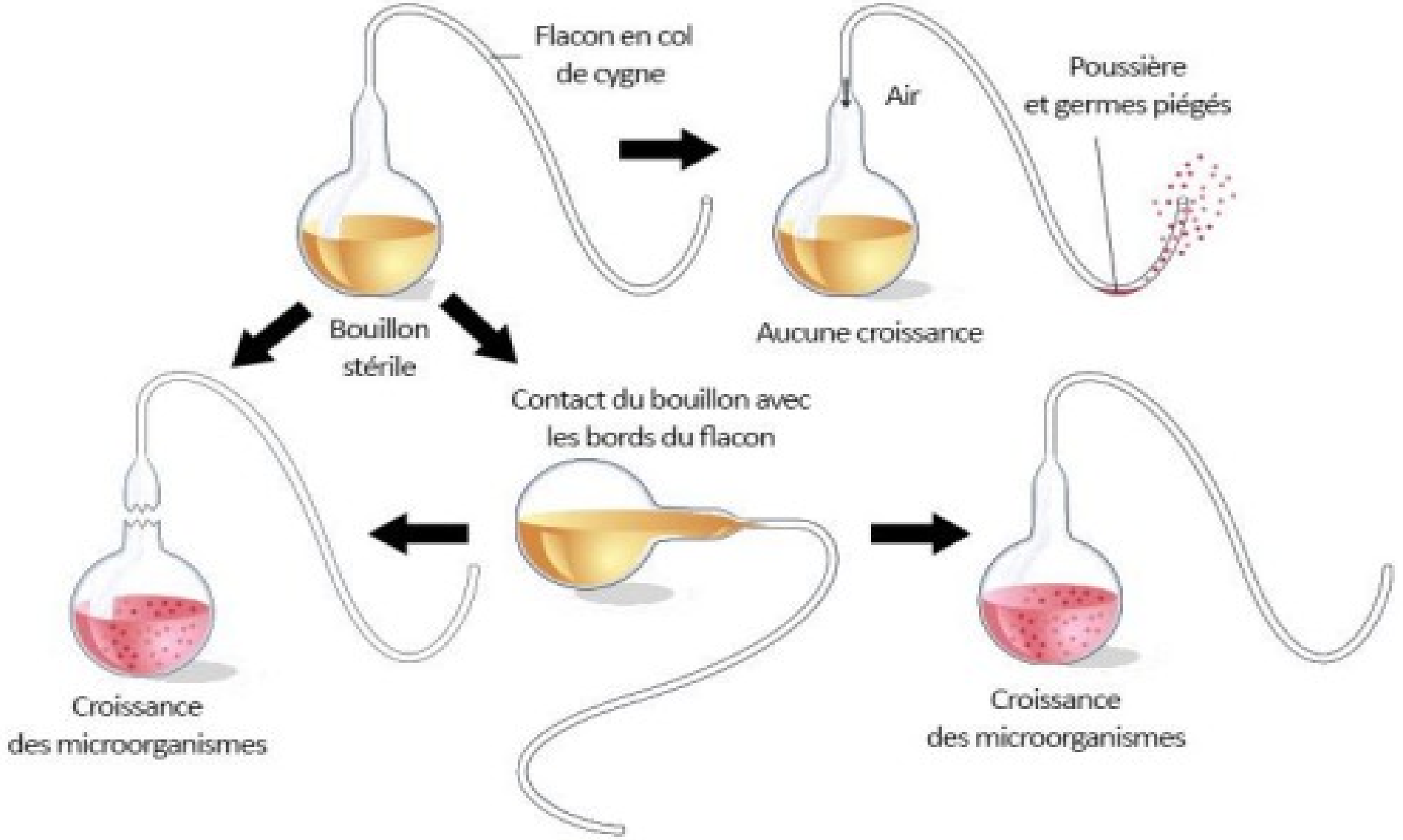


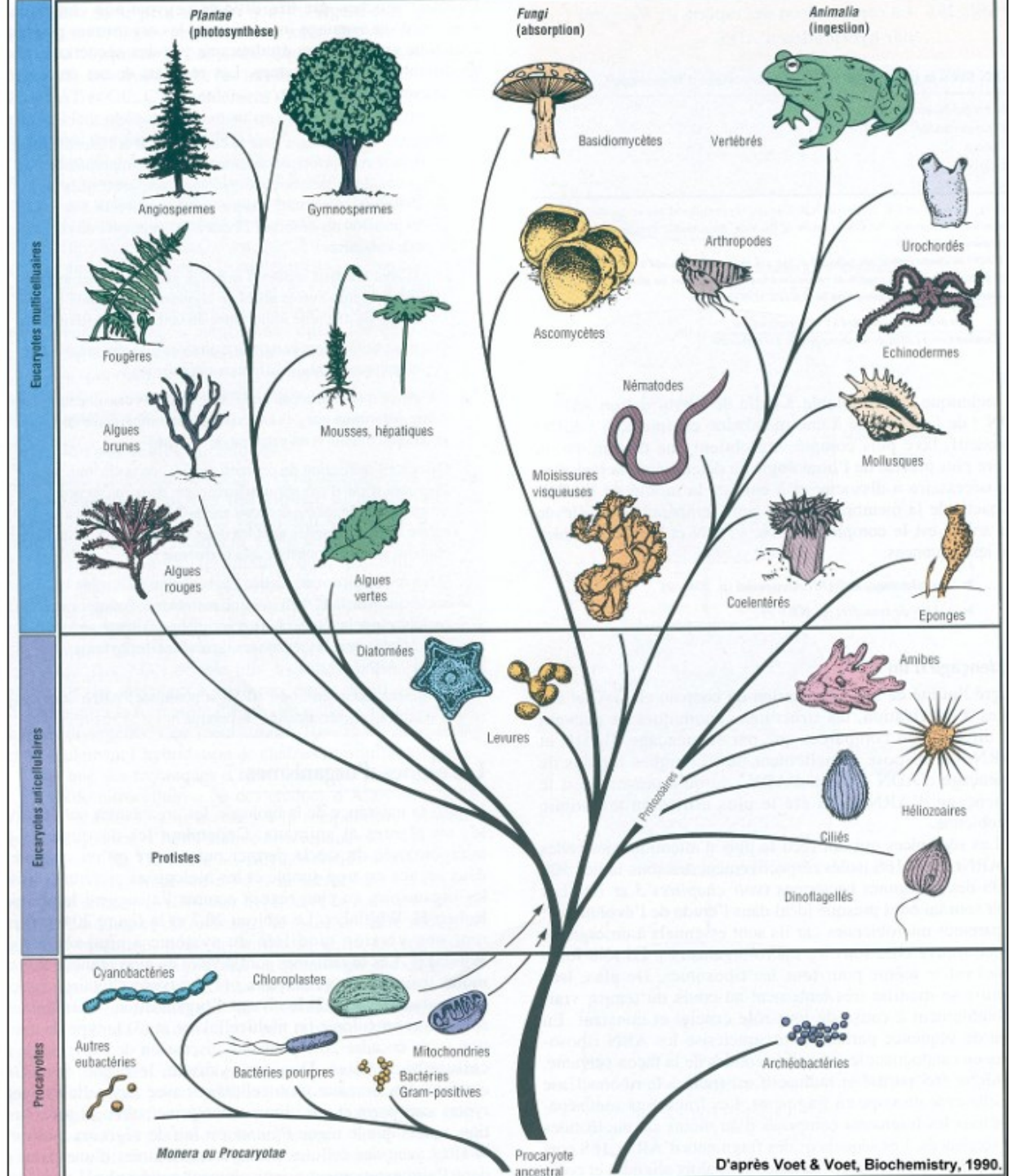
Figure I.4 : Les expériences de Pasteur avec les flacons à col de cygne.

- John Tyndall (1820-1893) donna un coup final à la génération spontanée en 1877 en démontrant que ln poussière portait réellement les germes et que si la poussière était absente, le bouillon restait stérile même s'il était exposé directement à l'air. Durant ces études, Tyndall montra l'existence de formes bactériennes exceptionnellement résistantes à la chaleur.

Classification

- **Haeckel (1866):** le monde vivant en trois règnes, le règne animal, le règne végétal et le règne des protistes (qui rassemble les algues, les protozoaires, les champignons et les bactéries).
- **Edward Chatton (1937):** grâce à l’invention du microscope électronique, Edward Chatton mis en opposition deux types de cellules, la cellule eucaryote la cellule procaryote.
- **selon Murray (1968):** dans la continuité du travail d’E. Chatton, divise le monde vivant en deux règnes, celui des "Eucaryotae" et celui des "Procaryotae" (ou "Monera").

- **Robert H. Whittaker (1969):** Décrit une classification à cinq règnes. Quatre règnes eucaryotes (Animal, Végétal, Champignons et Protistes). Les procaryotes se regroupent dans le règne des monères.


Eucaryotes multicellulaires
Eucaryotes unicellulaires
Procaryotes
Plantae (photosynthèse)
Fungi (absorption)
Animalia (ingestion)
Angiospermes
Gymnospermes
Basidiomycètes
Vertébrés
Fougères
Algues brunes
Algues rouges
Mousses, hépatiques
Algues vertes
Ascomycètes
Arthropodes
Urochordés
Echinodermes
Nématodes
Mollusques
Moisissures visqueuses
Coelentérés
Eponges
Diatomées
Levures
Protistes
Protozoaires
Amibes
Héliozoaires
Ciliés
Dinoflagellés
Cyanobactéries
Chloroplastes
Mitochondries
Autres eubactéries
Bactéries pourpres
Bactéries Gram-positives
Archéobactéries
Monera ou Procaryotae
Procaryote ancestral
D'après Voet & Voet, Biochemistry, 1990.

- **Les Protistes**

- Les protistes sont définis par des propriétés communes et spécifiques :
- Leur taille microscopique, leur organisation simple unicellulaires pour la plupart ; Si pluricellulaires, alors leurs cellules sont équivalentes, sans aucune différence morphologique, physiologique ou fonctionnelle.
- Les protistes se composent : des bactéries, des protozoaires, des champignons (Mycètes) microscopique, et des algues.
- Ils sont définis par des propriétés communes et spécifiques, leur taille microscopique, leur organisation simple unicellulaires pour la plus part.
- Les virus sont considérés comme des microorganismes non vivants, acellulaires, puisqu’ils ne peuvent accomplir aucune activité vitale avec autonomie.

- ***Propriétés générales :***

- Les protistes se distinguent des animaux et des végétaux par leur structure, leur physiologie et leur écologie.
- Les protistes sont traditionnellement divisés en deux grandes classes :
    - **Protistes supérieurs ou Eucaryotes**
- 1. Algues (excepté les algues bleu-vert)
- 2. Protozoaires
- 3. champignons
    - **Protistes inférieurs ou Procaryotes**
- 1. Algues bleu-vert (ou Cyanophycées)
- 2. Bactéries ou Schizomycètes

• Archéobactéries

- Les Archaea ont plusieurs caractéristiques en commun avec les Eucarya, et d'autre avec les Bacteria, sans oublier des éléments qui sont uniquement archéens. En général, les gènes liés à l'information (qui encodent les protéines impliquées dans la réplication, la transcription et la traduction) ressemblent à ceux des Eucarya tandis que les gènes du métabolisme sont similaires aux gènes bactériens. Les archées sont soit positives, soit négatives à la coloration de Gram, mais elles ont des parois cellulaires différentes de celles des Bacteria. Les parois des Archaea ne contiennent pas de peptidoglycane. Elles peuvent être composées de pseudomuréines, de polysaccharides ou de glycoprotéines et d'autres protéines. Ceci les rend insensibles aux antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la paroi.

- Les Archaea sont très diverses, aussi bien en morphologie qu’en physiologie. Elles peuvent être sphériques, en bâtonnet, spiralées, lobées, cuboïdes, triangulaires ou pléomorphes. Certaines vivent en cellule isolée tandis que d’autre forment des filaments ou des agrégats. Les endospores sont absentes. La multiplication peut se faire par scissiparité, par bourgeonnement, par fragmentation ou par d’autres mécanismes. La plupart sont anaérobies stricts mais

- **IMPORTANCE DES MICROBES**

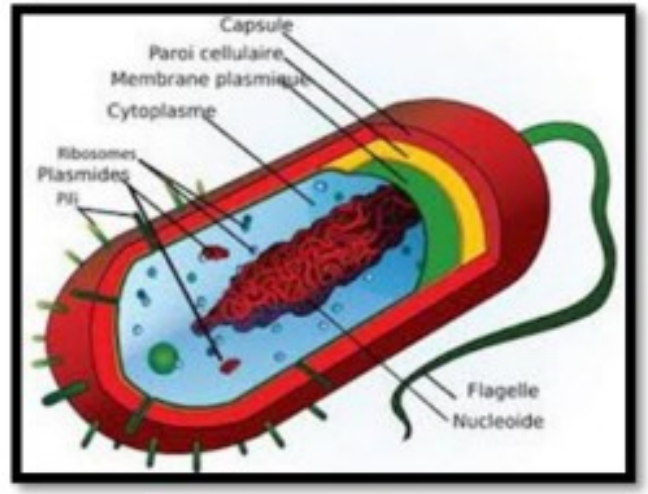
- Les microbes affectent tous les domaines de la vie.
- Exemples :
- - ***L'environnement :*** les microbes assurent le recyclage du carbone, de l'azote et du phosphore (cycles géochimiques), composants essentiels aux organismes vivants. On les trouve en association symbiotique avec les plantes et ils maintiennent la fertilité des sols et peuvent être utilisés pour éliminer les composants toxiques de l'environnement (bioremédiation).
- Certains microbes sont pathogènes pour les plantes, ils détruisent d'importantes cultures alimentaires, mais d'autres, peuvent aussi servir d'agents de contrôle biologique des maladies

- **- La médecine :** la capacité de certains microbes à provoquer des maladies comme la variole (ex : virus), le choléra (Vibrio cholerae) et la typhoïde (Salmonella typhi) est bien connue. Cependant ce sont les microorganismes qui nous ont fourni les moyens de les contrôler, comme les antibiotiques.
- **- Les aliments :** les microbes sont utilisés depuis des centaines d’années pour fabriquer des aliments comme la fermentation, la production de vin, de fromage et de pain. D’un autre côté, les microbes sont responsables de contaminations alimentaires et des microbes pathogènes sont fréquemment portés par les aliments.

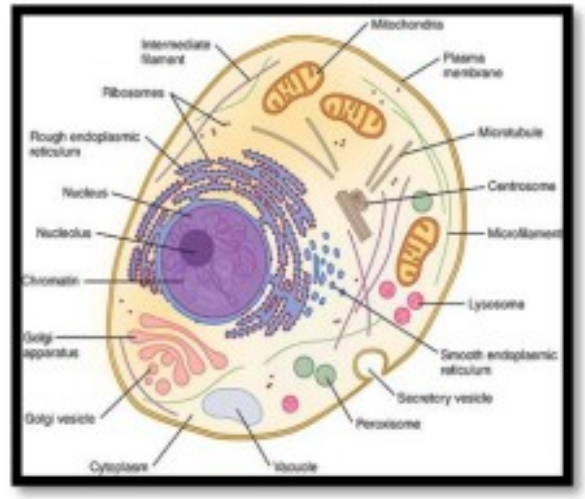
- **- La biotechnologie :** traditionnellement les microbes sont utilisés pour synthétiser de nombreux produits chimiques importants comme l'acétone et l'acide acétique. Plus récemment, les progrès des techniques de génie génétique ont permis le clonage des polypeptides important sur le plan pharmaceutique : grâce aux microbes, on a pu les produire en grande quantité.
- **- La recherche :** les microbes sont très utilisés comme modèles organiques pour la recherche biochimique et génétique, car ils sont plus facilement maniables que les cellules animales et les plantes qui sont complexes. Des millions de copies d'une seule cellule peuvent être produits rapidement et à un moindre coût, afin de fournir un matériel expérimental homogène. Un autre avantage est que la plupart des gens n'ont pas d'objection éthique concernant les expériences sur les microorganismes.

Caractéristiques générales de cellules procaryotes / cellules eucaryotes :

- On distingue encore une fois les protistes procaryotes et les protistes eucaryotes;
  - Les protistes procaryotes, dont l'organisation cellulaire est simple, c'est à dire sans noyau, l'ADN portant l'information génétique est directement au contact du cytoplasme. Les bactéries appartiennent à ce groupe.
  - Les protistes eucaryotes, dont l'organisation cellulaire complexe comprend un noyau contenantl'information génétique, portée par l'ADN des chromosomes.



Cellule procaryote



Cellule eucaryote

caractéristiques des eucaryotes et des procaryotes tout en faisant apparaitre les caractères de différenciation.

Caractéristiques	Cellule Procaryote	Cellule Eucaryote
Taille typique	1-10 µm	10-100 µm
Type de noyau	nucléoïde (pas de véritable noyau)	vrai noyau avec double membrane
Division de la cellule	division simple	mitose (réplication de la cellule) méiose (menant à la formation de gamètes)
Organisation génétique		
Membrane nucléaire	Non	oui
Nombre de chromosomes	1 chromosome (Haploïde	Plusieurs chromosomes Diploïde)
Chromosome circulaire	Oui	non
Histones	Non	oui
Nucléole	Non	oui
Echange génétique	transfert unidirectionnel	fusion de gamètes
ARN et synthèse des protéines	couplé au cytoplasme	synthèse d'ARN dans le noyau synthèse de protéines dans le cytoplasme
Premier acide aminé initiant la synthèse d'une chaîne polypeptidique	méthionine ou N-formylméthionine	méthionine
Structures cellulaires et organites		
Réticulum endoplasmique	Non	oui
Appareil de Golgi	Non	oui
Lysosomes	Non	oui
Mitochondries	Non	oui
Chloroplastes	Non	oui chez les plantes
Microtubules	Non	oui
Paroi cellulaire avec peptidoglycane	Oui	non
Présence de stérols dans les membranes	Non	oui
Endospores	oui, parfois	non
Taille des ribosomes	70 S	80 S, sauf mitochondries et chloroplastes
Localisation des ribosomes	dispersés dans le cytoplasme	dispersés dans le cytoplasme ou liés au réticulum endoplasmique
Constantes de sédimentation des ARN ribosomaux	16S, 23S, 5S	18S, 28S, 5,8S, 5S
Attributs fonctionnels		
Phagocytose	Non	oui, parfois
Pinocytose	Non	oui, parfois
Flux cytoplasmique	Non	oui
Mouvement de la cellule	flagelles faites de flagelline	flagelle et cils faits de tubuline
Site du transport des électrons	membrane cellulaire	membrane des organites

Chapitre 2: la cellule bactérienne

- **1. Définition**

- Les bactéries typiques sont des organismes unicellulaires procaryotes. Elles n’ont pas de noyau et leur génome est le plus petit des cellules vivantes. Les bactéries se divisent en eubactéries et en archaebactéries.

- **1.1.Archaebactéries:** sont adaptées à la vie dans des conditions de vie extrêmes (forte salinité, haute température, faible pH, sans oxygène).

- **1.2.Eubactéries:** sont des "vraie" bactérie, Les eubactéries

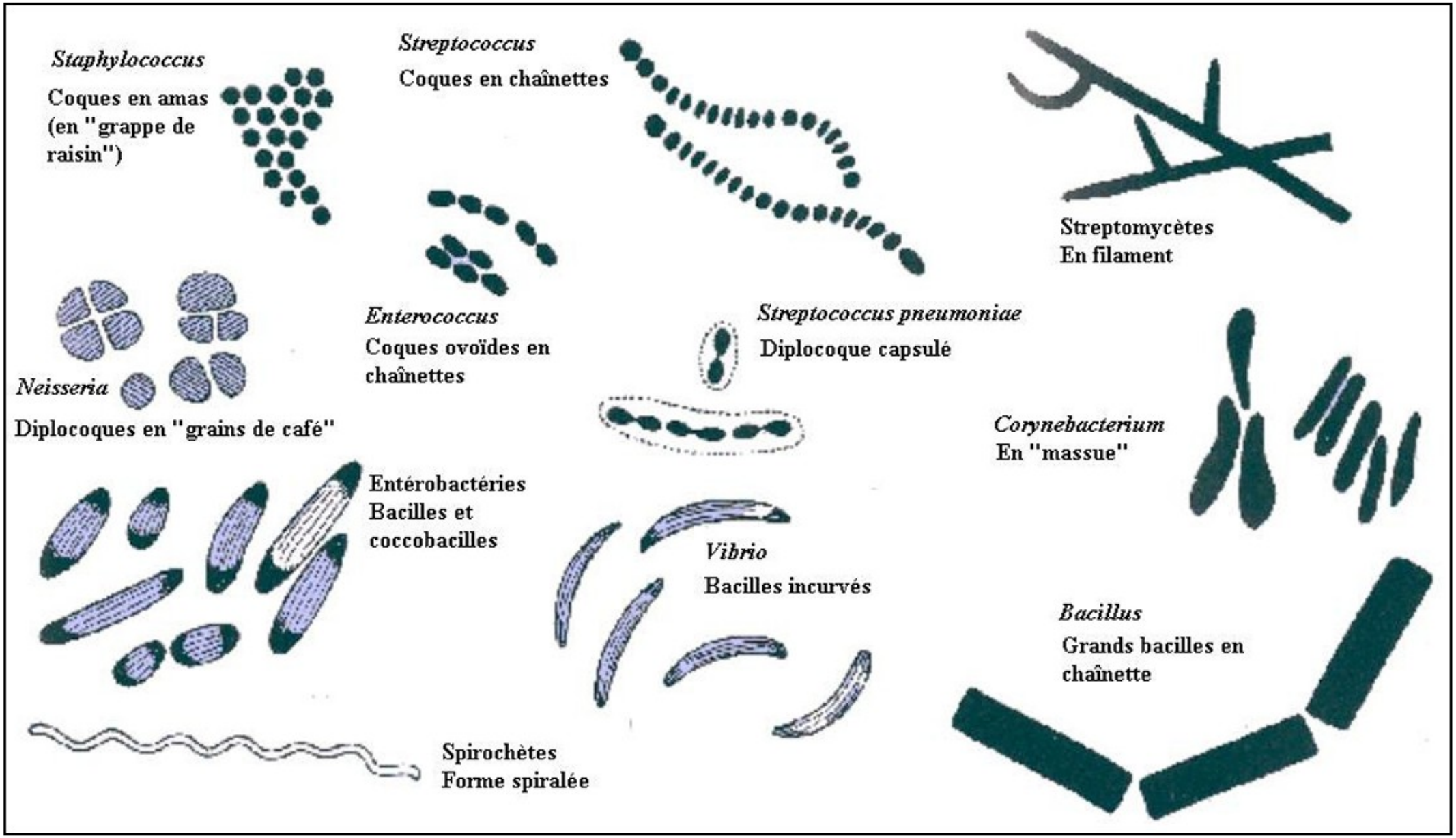
- **A. Bactéries ubiquitaires:** une extraordinaire diversité, les bactéries ont colonisé tous les milieux (air, eau, sol et être vivant…). Certaines peuvent même vivre dans des conditions extrêmes.
- **B. Bactéries commensale :** On appelle flore commensale un ensemble de bactéries qui vivent sur ou dans un organisme sans lui porte préjudice. Elle contribue soit à sa défense, soit à son fonctionnement, soit au bon état de ses muqueuses. La flore commensale est principalement sur les muqueuses : peau, tube digestif, arbre respiratoire, appareils génitaux.

- **C. Bactéries pathogènes :**sont des bactéries qui provoquent un ensemble de troubles spécifiques plus ou moins sévères chez un hôte infecté.
- **D. Bactéries opportunistes:** bactérie commensale normalement présente dans l'organisme sans l'affecter, mais qui peut provoquer une maladie à la suite d'une diminution des défenses de l'organisme (chez les immunodéprimés ou les malades du SIDA…).

- **2- Morphologie cellulaire :**
- Lorsqu’on observe des bactéries au microscope optique à partir de prélèvements pathologiques ou d’un milieu de culture, on reconnaît rapidement la forme des cellules, leurs dimensions, enfin les arrangements ou les groupements qu’elles constituent entre elles. Toutes ces informations définissent la morphologie bactérienne et constituent un des critères de reconnaissance et d’identification.

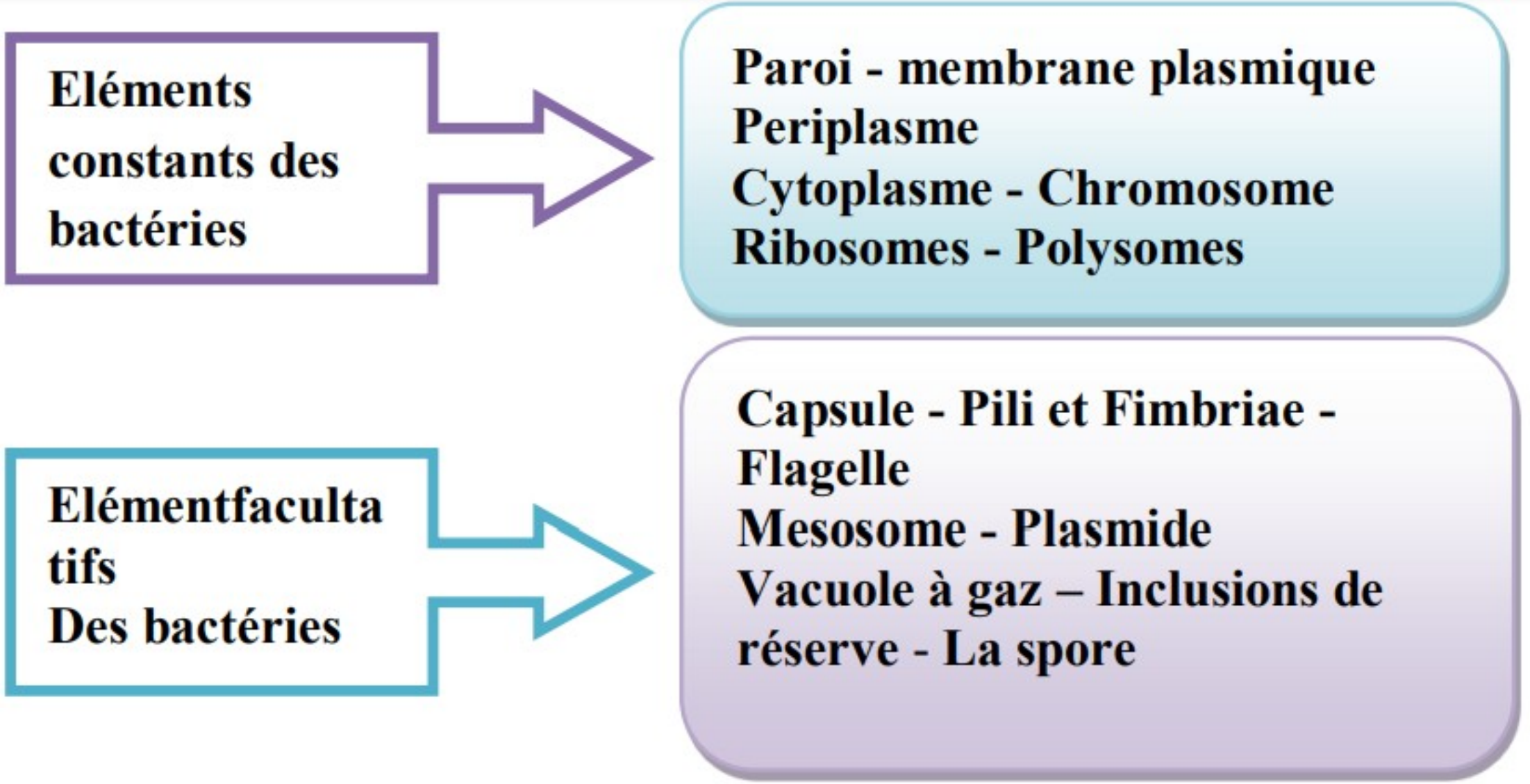
- **2.1- Formes des cellules bactériennes :**les bactéries sont des organismes unicellulaires de formes variées:
- **2.1.1. Bactéries de forme sphérique, arrondies ou cocci,** isolées, en chaînette, en amas (nombre variable de cellules) **:** Staphylocoques, Streptocoques …
- **2.1.2. Bactéries de forme cylindrique ou en bâtonnet:** On en distingue deux principales: Le bâtonnet droit ou bacille (allongée), isolée, en chaînette ou en amas, de longueur et de diamètre variables :E. coli, Salmonella, Bacillus. le bâtonnet incurvé ou vibrion: forme cylindrique est celle du vibrion, bacille incurvé, en virgule (Vibriocholerae)
- **2.1.3. Bactéries de forme spiralée :** spirilles, spirochètes, comme Treponema. **2.1.4. Un groupe particulier de bactéries de forme filamenteuse** se rapprochant des moisissures : les Actinomycètes.

- **2.3. Associations cellulaires :**une espèce bactérienne peut apparaître sous forme de cellules isolées séparées ou en groupements caractéristiques variables selon les espèces : association par paires, en amas réguliers, en chaînette, par quatre (tétrades).



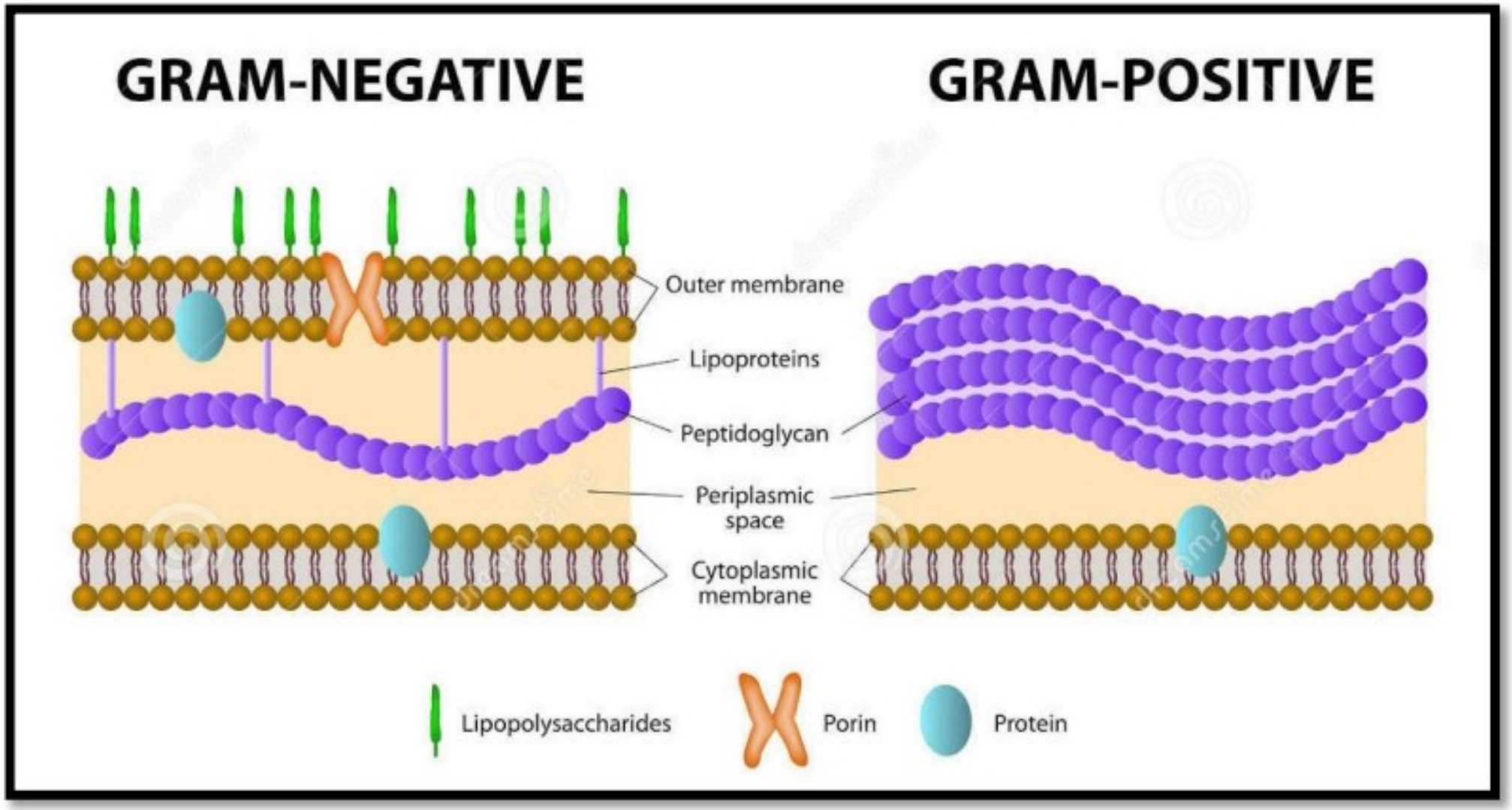
Les différentes formes et associations bactériennes

3. Eléments constants et inconstants de la structure bactérienne

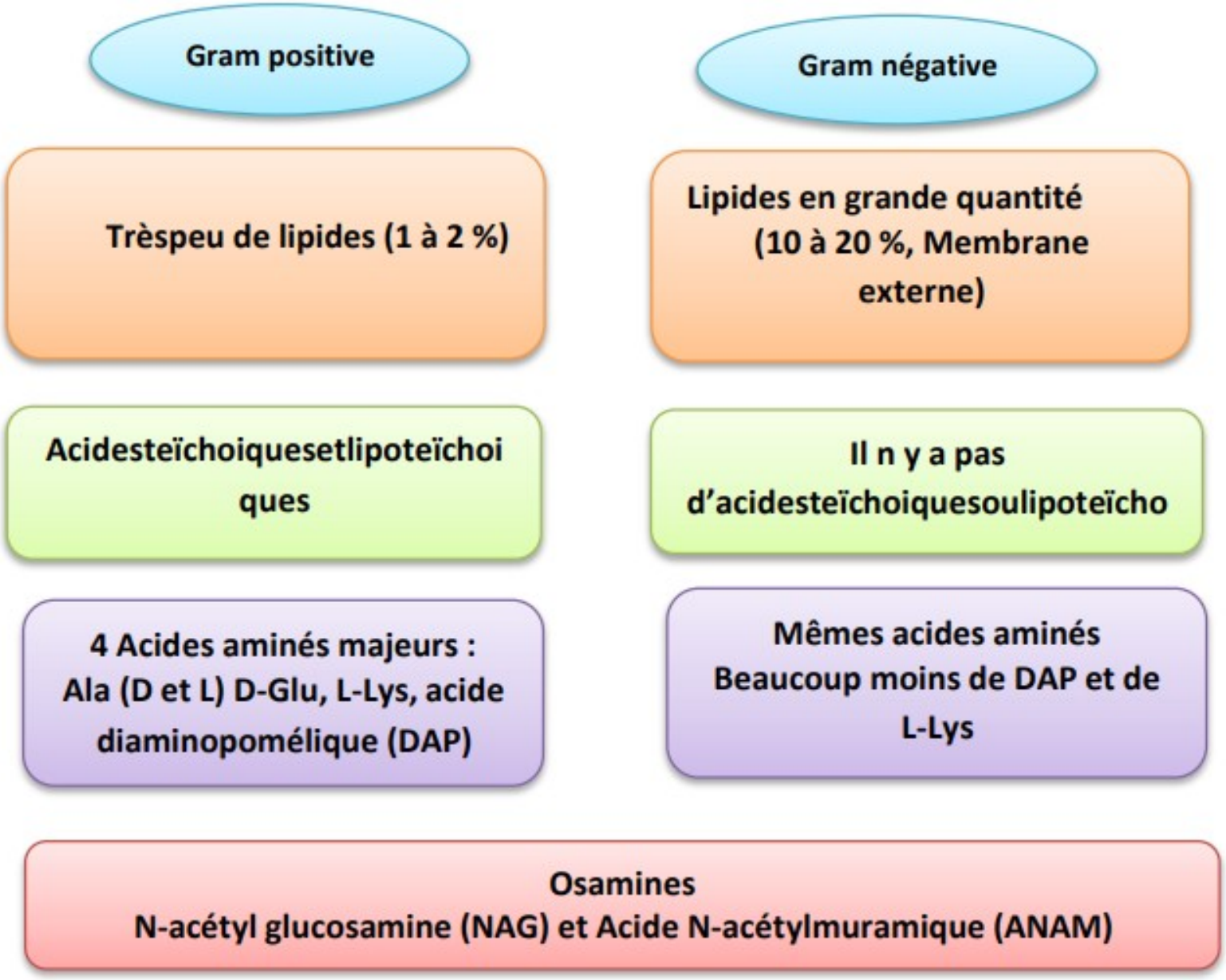


- **3.1. La Paroi:** Enveloppe rigide assurant l'intégrité de la bactérie.
- Elle est responsable de la forme des cellules.
- Elle protège des variations de pression osmotique. Elle est absente chez les Mollicutes, (*Mycoplasma*).
- La paroi permet la différenciation de deux grands types de bactéries. En effet, la distinction entre bactéries à gram positif et à Gram négatif repose sur une différence de composition pariétale.

- **3.1.2. Structure moléculaire de la paroi des Gram négatives et positives:**



- **3.1.1. Composition chimique de la paroi:**



BACTERIES GRAM NEGATIVES	BACTERIES GRAM POSITIVES
BXII. Phylum *Proteobacteria*	BXIII. Phylum *Firmicutes*
1. *Alphaproteobacteria*	**1. *Clostridia***
Acetobacter, Rickettsia, Rhizobium, Bartenella, Brucella	***Clostridium, Peptostreptococcus, Eubacterium***
2. *Betaproteobacteria*	**2. *Mollicutes***
Burkholderia, Alcaligenes, Bordetella, Neisseria	***Mycoplasma, Ureaplasma, Erysipelothrix* (?)**
3. *Gammaproteobacteria*	**3. *Bacilli***
Xanthomonas, Stenotrophomonas, Francisella, Legionella, Pseudomonas, Moraxella, Acinetobacter, Alteromonas, Vibrio, Enterobacteriaceae, Pasteurella, Haemophilus	***Bacillus, Listeria, Staphylococcus, Lactobacillus, Enterococcus, Leuconostoc, Streptococcus, Lactococcus***
4. *Deltaproteobacteria*	BXIV. Phylum *Actinobacteria*
5. *Epsilonproteobacteria*	*Actinomycetales*
Campylobacter, Helicobacter	***Actinomyces, Micrococcus, Brevibacterium, Corynebacterium, Mycobacterium, Propionibacterium, Streptomyces***
BXVI. Phylum *Chlamydiae*	*Bifidobacteriales*
Chlamydia, Chlamydophila	***Bifidobacterium, Gardnerella***
BXVII. Phylum *Spirochaetes*	
Borrelia, Treponema, Leptosipra	
BXX. Phylum *Bacteroidetes*	
Bacteroides, Flavobacterium	
BXXI. Phylum *Fusobacteria*	
Fusobacterium	

- Domaine
- Règne
- Phylum
- Classe
- Ordre
- Famille
- Genre
- Espèce

- **A. Paroi de Gram +:**
- - Le peptidoglycane est le constituant majeur (90%), il est très solide (épais 15 à 30nm), les liaisons croisées entre chaînes glucidiques sont nombreuses. Ce peptidoglycane est séparé par un espace périplasmique.
- - Le reste correspond à l’acides teïchoiques (10%),sont des polymères de glycérol et de ribitolreliés à des groupes PO4 et dépassent la paroi ; les acides lipoteichoïques s’enchâssent dans la membrane cytoplasmique.
- - Les acides LT retiennent le violet lors de la coloration de Gram.

- **B. Paroi de Gram - :**
- Beaucoup plus complexe, elle est constituée du peptidoglycane et de la membrane externe.
- Il y a plusieurs couches:
- - Le peptidoglycane se présente sous la forme d’une couche mince (3 à 5nm)
- - La membrane externe: Elle est séparée de la membrane plasmique par l'espace périplasmique (donc le peptidoglycane est au milieu de l'espace).
- - Lipopolysaccharides (LPS) :formé de 3 parties :
  - - Le lipide (A) possédant une partie hydrophobe et une hydrophile.
  - - Le polysaccharide central, constitué de 10 sucres.
  - - La chaine latérale O, ou antigène O, chaine courte, de composition variée selon la souche bactérienne.

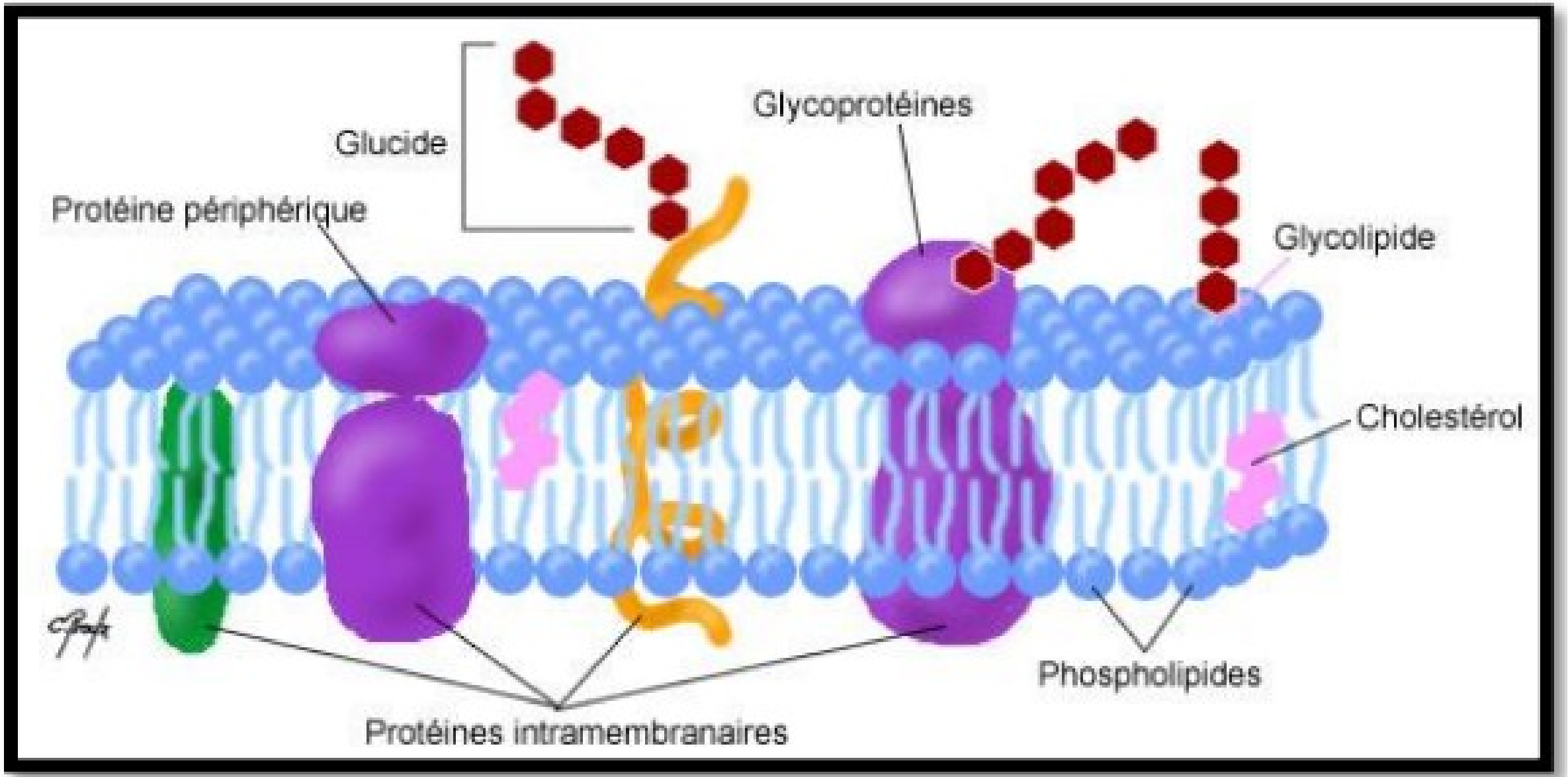
- **NB :** Le LPS joue plusieurs fonctions, telle que l’attachement sur les surfaces, bloque l’entrée de substances toxiques.
- Il agit comme une endotoxine (lipide A) qui cause les symptômes des maladies induites par des Gram négatives.

- - On note également la présence de **PORINES** (protéines de passage) : seules structures de transport des composés hydrophiles, essentielles à la vie de la bactérie comme les monosaccharides, mais aussi à l'action de certains antibiotiques. D'autres protéines servent à la captation d'ions (fer), ou de vitamines (facteurs de croissance).

- **3.1.4. Fonction de paroi bactérienne :**
- 1- assurer le maintien de la forme de la bactérie.
- 2- assurer une protection contre la pression osmotique intracellulaire.
- 3- propriétés antigéniques.
- 4- permettre la fixation des bactériophages. Ils reconnaissent des récepteurs localisés sur le peptidoglycane des Gram(+) ou la membrane externe des Gram(-).
- 5- participer à la mobilité. En effet, les flagelles sont implantés dans la membrane cytoplasmique mais ne peuvent pas fonctionner en absence de peptidoglycane.
- 6- la toxicité. Chez les Gram(-), le LPS est une endotoxine.
- 7- la perméabilité. La paroi laisse passer de petites molécules comme l'eau, les sels minéraux ou des métabolites simples. Par contre elle est plus ou moins perméable à certains solvants.

- **3.3. La membrane cytoplasmique :**
- **3.3.1. Composition Chimique :**
- Elle possède le même type de structure que celle d’une cellule eucaryote (bicouche phospholipidique) mais avec beaucoup moins de glucides et jamais de stérols (sauf chez les mycoplasmes).
- Elle est composée de 60 à 70 % de protéines et 30 à 40 % de lipides.
- La membrane plasmique contient les enzymes de la chaine respiratoire, les déshydrogénases et les coenzymes associés : NAD+, FAD, cytochromes, cytochrome oxydase.
- D’autres enzymes impliquées dans la synthèse des lipides et dans la réplication de l’ADN y sont localisées.

- **3.3.2. Structure de La membrane cytoplasmique :**
- La membrane cytoplasmique limite le cytoplasme de la bactérie.
- Elle a une épaisseur de 8 nm environ et comporte deux feuillets denses limitant un feuillet interne transparent (structure en double feuillet).
- Elle contient principalement des phospholipides (30 à 40%) et des protéines (60 à 70%).
- On distingue deux catégories de protéines :
  - les protéines périphériques et les protéines intégrales qui traversent complètement le double feuillet.


Glucide
Glycoprotéines
Protéine périphérique
Glycolipide
Cholestérol
Phospholipides
Protéines intramembranaires

- **3.3.3. Fonction de La membrane cytoplasmique :**
- 1- barrière semi-perméable (ou semi sélective): elle permet le passage de molécules lipophiles et empêche le passage des molécules hydrophiles.
- On distingue 2 grands types de transport :
  - Le transport passif : il se fait dans le sens du gradient de concentration et ne nécessite pas d'énergie.
  - Le transport actif : il se fait en sens inverse du gradient de concentration des molécules, ce qui nécessite l'utilisation d'énergie (généralement fournie sous forme d'ATP).

- 2- Site de fixation des flagelles.
- 3- Possède des protéines membranaires ayant pour rôles :
- - la biosynthèse.
- - Enzymes de la chaîne respiratoire.
- - Transporteurs.

- **3.6. Les Plasmides :**
- La cellule bactérienne peut contenir des éléments génétiques extra chromosomiques, capables d’autoréplication.
- On les appelle plasmides (Lederberg , 1952).
- Certaines bactéries possèdent plusieurs plasmides différents. Les plasmides permettent à la bactérie une meilleure adaptation à son environnement.

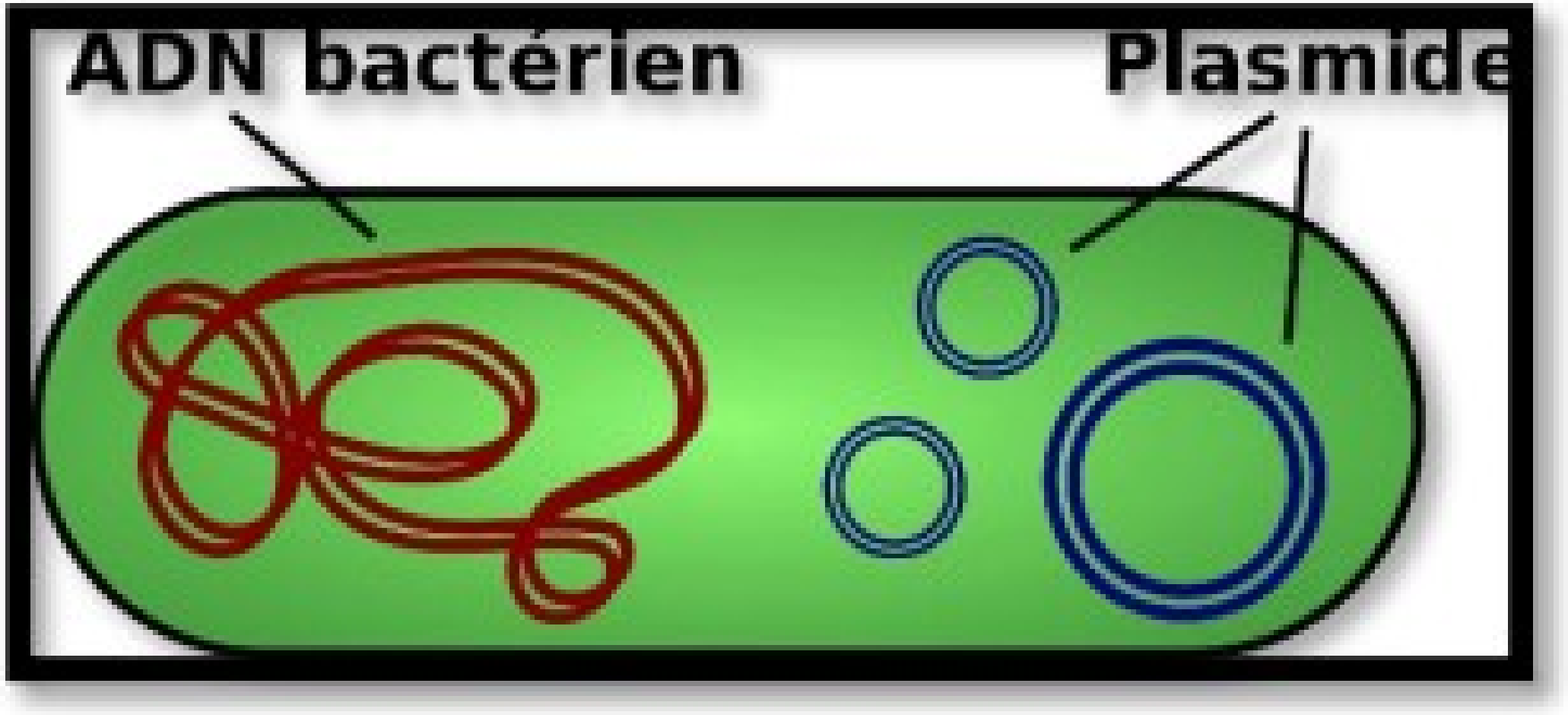


Schéma ADN et plasmide bactérien

- **3.6.1. Structure des plasmides**
- Les plasmides sont des molécules d’ADN bicaténaires , généralement circulaires mais il en existe des linéaires.
- Parfois ils s’intègrent dans le chromosome et on les appelle des épisomes.
- Ils sont transmissibles aux cours des générations mais pas de façon équitable comme pour le chromosome, d’une taille variant de 1 à 400 kb, plasmides sont très largement répandus dans le monde bactérien.

- **3.6.2. Propriété de plasmide :**
- Le plasmide peut être perdu (le phénomène de curage), soit spontanément au cours des repiquages ou de la conservation des souches, soit sous l’influence de facteurs physiques (rayons UV) ou de facteurs chimiques.
- Les plasmides portent souvent des gènes qui ne sont pas indispensables à la vie normale de la cellule.
- Mais notons que de nombreuses activités biologiques sont sous la dépendance de plasmides.

- Les plus importantes sont les propriétés suivantes :
- a) Résistance aux antibiotiques (90% plasmidique) les 10% restant (chromosomique).
- b) Résistance aux métaux lourds (mercure, sels de cadmium, bismuth, de plomb, d’antimoine et arsénites.
- c) Production de substances à rôle pathogène. L’exemple le plus étudié est rencontré chez les Escherichia coli, responsables de diarrhées

- d) Le pouvoir pathogène dans les 3 cas est contrôlé par une information génétique portée par un plasmide, codant pour des entérotoxines et des facteurs de colonisation permettant l’attachement des bactéries à la surface de l’intestin (épithélium intestinal).
- e) Production de bactériocines
- f) Caractères métaboliques : un grand nombre de caractères biochimiques des bactéries sont d’origines plasmidiques.

Notions d’écologie microbienne

- **Micro-organismes et milieux naturels**
- Les micro-organismes occupent de multiples milieux naturels : sols, lacs, rivières, océans... Ils interagissent avec leur environnement en participant activement aux cycles biogéochimiques : carbone, azote, soufre, métaux... Les micro-organismes saprophytes se nourrissent de matières organiques présentes dans l’environnement.
- Dans un sol par exemple, la flore microbienne tellurique participe activement à la décomposition de la matière organique (minéralisation).
- Ces micro-organismes (bactéries et champignons principalement) sont des décomposeurs.
- Dans les écosystèmes aquatiques, les bactéries assurent également la décomposition des matières organiques en solution.
- En surface, d’autres bactéries (Cyanobactéries, bactéries pourpres et vertes) et des algues

- **Relations hôte – micro-organisme**

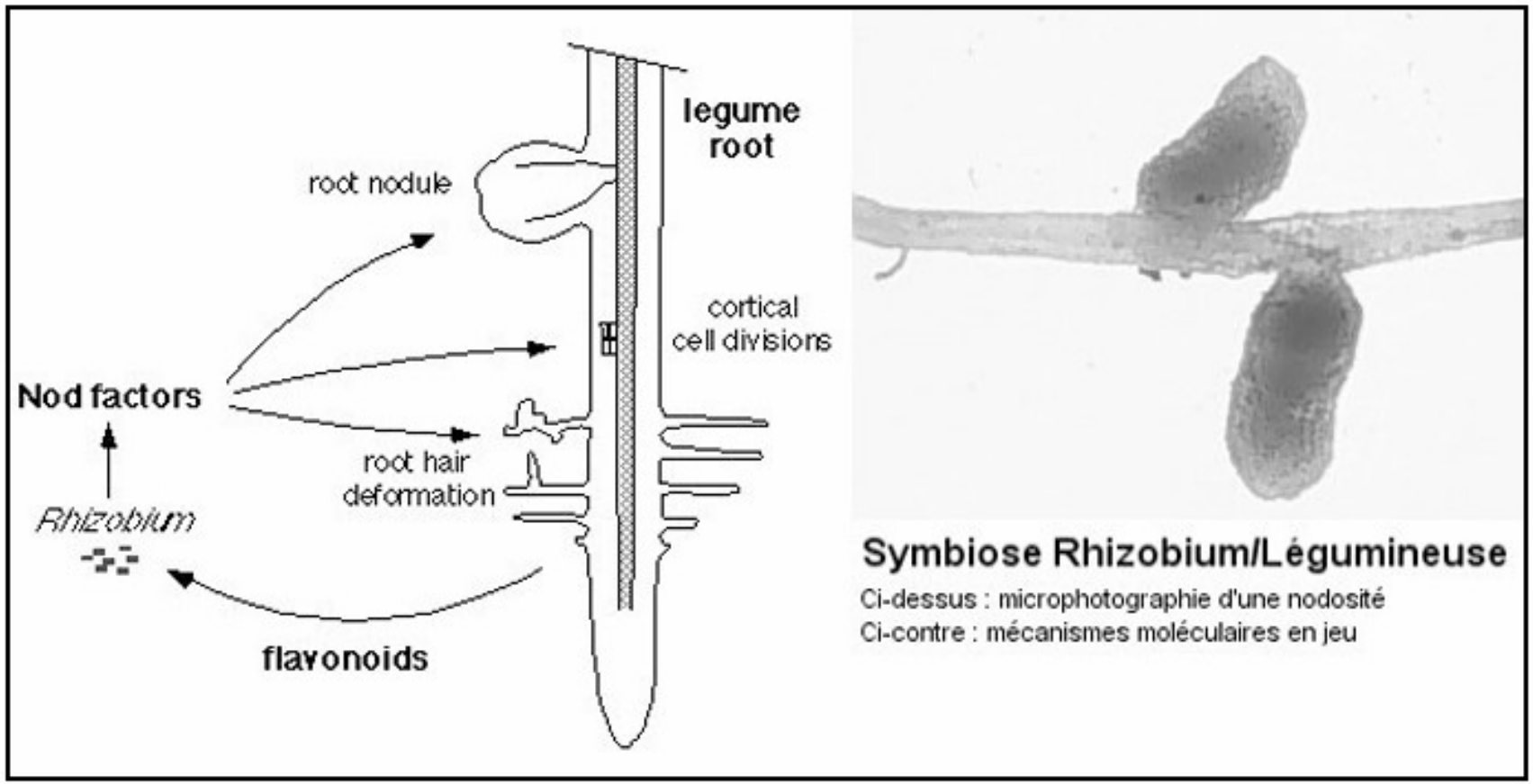
➢ **La symbiose**

La symbiose désigne une interaction étroite entre un micro-organisme et son hôte.

Lorsque les deux organismes interagissent à leur profit mutuel, il s’agit d’une relation de type mutualisme.

Exemple 1 : dans le rumen des ruminants, des micro-organismes assurent la digestion de la cellulose en sures simples utilisables par le mammifère, tandis que le rumen constitue un fermenteur naturel pour les micro-organismes.

- Exemple 2 : les bactéries Rhizobium forment sur les racines de leur légumineuse hôte des organes spécialisés, les nodosités, au sein desquels elles réduisent l’azote atmosphérique en ammonium, assimilable par la plante.
- Cette symbiose produit chaque année, à l’échelle de la planète, une quantité d’azote assimilable équivalente à celle synthétisée par l’ensemble de l’industrie mondiale des engrais !



Symbiose Rhizobium/Légumineuse

Ci-dessus : microphotographie d'une nodosité
Ci-contre : mécanismes moléculaires en jeu

- **Le commensalisme**
- Dans ce type de relation, le micro organisme tire un bénéfice de son hôte, sans lui nuire pour autant.
- Les bactéries vivant sur la peau, au niveau de l’oropharynx, de l’appareil génital ou dans le tube digestif sont des bactéries commensales.

- **Le parasitisme et la pathogènicité**
- Un micro-organisme parasite satisfait ses besoins nutritifs aux dépens de l’hôte.
- S’il entraîne un état maladif de l’hôte, il est dit pathogène.
- Les bactéries pathogènes strictes (BPS) entraînent des maladies cliniquement définies chez l’hôte sain. Exemples : Salmonella Typhi, Yersinia pestis, Shigella dysenteriae Les bactéries pathogènes opportunistes (BPO) produisent une maladie chez l’hôte dont les défenses sont affaiblies (immunodéficience).
- De nombreuses bactéries saprophytes ou commensales peuvent devenir pathogènes lorsque le « terrain » est favorable. Exemples : Klebsiella, Enterococcus…

- **Notions de flore résidente et de flore transitoire**
- **Flore résidente**

- Elle est constituée de micro-organisme implantés de façon permanente (sur la peau, dans la sphère intestinale...).
- Elle joue un rôle important dans la résistance à la colonisation par d'autres micro organismes potentiellement plus pathogènes.
- D'une façon générale, les antiseptiques ont une action limitée sur la flore résidente, mais rapide et efficace sur

- **Flore transitoire**
- Il s’agit de micro-organismes contaminants (éventuellement pathogènes) habituellement absents d’une flore normale donnée.
- Sur la peau, peuvent-être retrouvés des microorganismes provenant :
  - • du tube digestif,
  - • de personnes colonisées ou infectées (« porteurs »),
  - • de l’environnement ou d’un matériel contaminé.

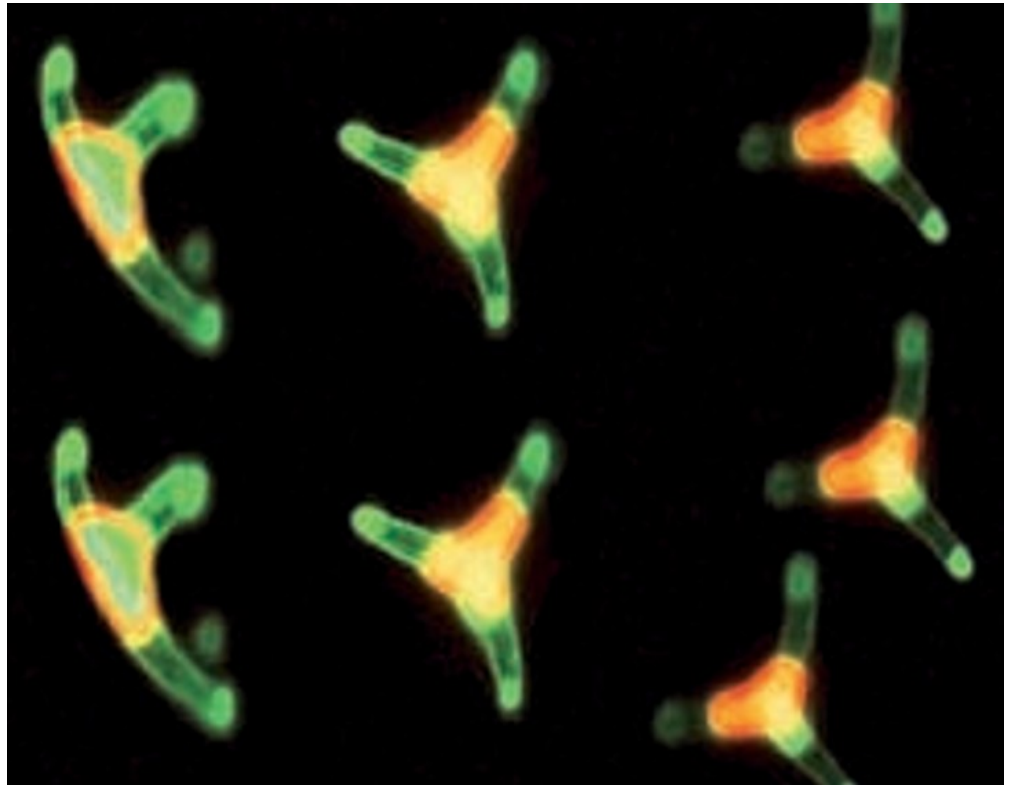
- Ils font un séjour bref sur la peau car ces micro-organisme ne peuvent pas s’y multiplier et de ne peuvent pas survivre très longtemps à cause de l’effet protecteur de la flore résidente et d’un environnement peu favorable (froid, sécheresse…)

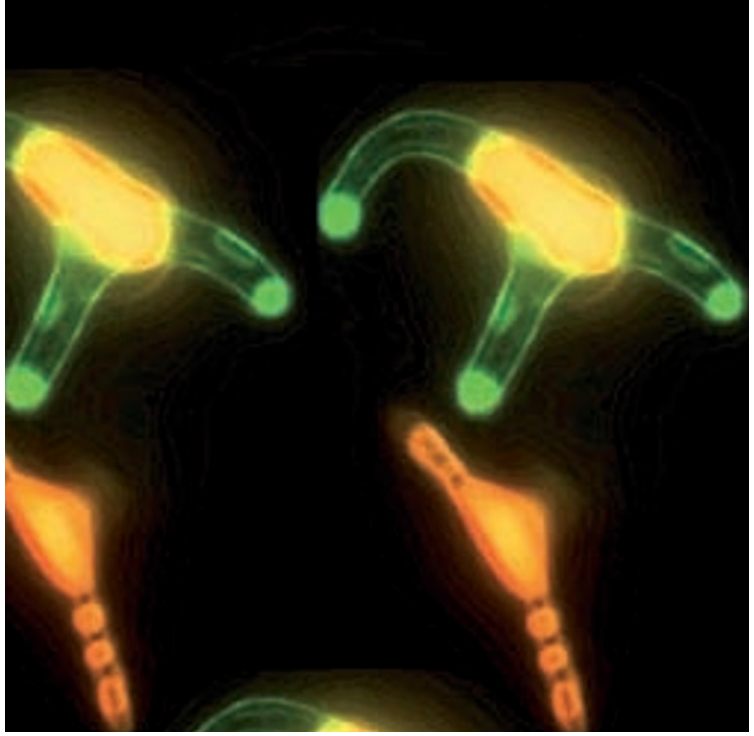
- **Porteur asymptomatique**
- C’est une personne hébergeant des micro-organismes pathogènes (bactéries, virus, etc.) mais ne présentant aucun signe de maladie et étant en bonne santé.
- Toutefois, ces personnes peuvent transmettre le micro-organisme à d'autres personnes. Il est plus exact de les appeler porteurs asymptomatiques (c'est à-dire personnes ne présentant pas de symptômes) que porteurs « sains ».
- Cela signifie qu'ils sont porteurs du micro-organisme et peuvent le transmettre mais ne présentent aucun signe de maladie.

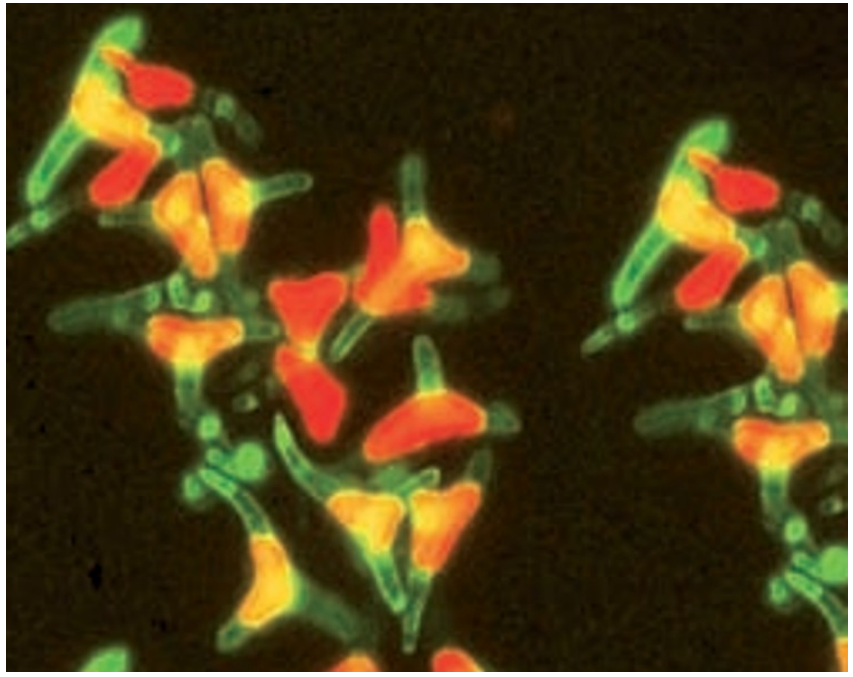
Les microorganismes eucaryotes

- **Les microalgues**

- Les microalgues vivent en suspension dans l’eau. Des centaines de milliers d’espèces de microalgues sont réparties sur la surface du globe en milieu marin, dulçaquicole4 ou saumâtre.
- Elles ont colonisé les gla ces polaires, les zones désertiques et les sources d’eau chaude.
- Elles vivent dans des marais salants, dans des milieux acides ou fortement alcalins.
- Elles jouent un rôle majeur dans le climat mondial comme machine à transformer le CO_2 en matière organique.







- Les algues unicellulaires sont capables, comme les végétaux supérieurs, d'utiliser la lumière comme source d'énergie.
- Elles sont autotrophes et pratiquent la photosynthèse, grâce à leurs pigments, dont le plus important est la chlorophylle.
- Elles n’exigent pour leur développement que de l’eau (douce ou salée), des éléments nutritifs, du carbone et de la lumière. Le taux de division cellu laire rapide (de l’ordre du jour) permet d’atteindre des densités cellulaires élevées et de répondre rapidement à toute stratégie de recherche et développement.
- La classification des algues ne tient pas compte de leur caractère unicellulaire ou pluricellulaire : elle est avant tout basée sur la composition en pigments.
- Certaines micro-algues sont directement toxiques pour la faune aquatique.

- D'autres espèces, peu toxiques pour la faune marine, synthétisent des substances qui sont accumulées au niveau du tube digestif principalement chez les mollusques.
- Ces substances rendent ces derniers impropres à la consommation humaine en raison d’une toxicité plus ou moins importante.
- Si des intoxications périodiques liées à la consommation de coquillages ont été décrites depuis très longtemps, la mise en évidence d'une relation entre la présence de certaines espèces de micro-algues dans l'eau où vivent les mollusques et leur toxicité date des années 1970.

- L’algue verte unicellulaire *Chlamydomonas reinhardtii* peut être cultivée de façon auto et hétérotrophe en utilisant de l’acétate comme source de carbone

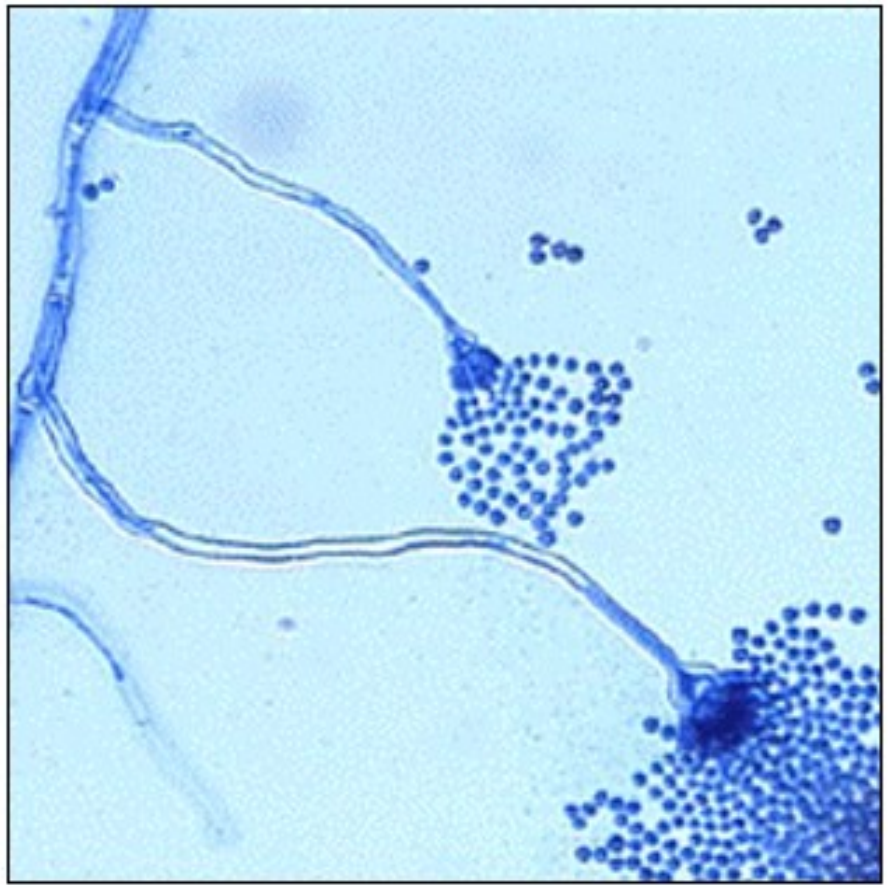
- **Types d'algues : microalgues**
- **Chrysophycées ou algues dorées** : elles sont pour la plupart photoautotrophes (organismes capables de produire leur propre énergie en utilisant la lumière et le dioxyde de carbone par le biais du processus de photosynthèse) et vivent majoritairement dans les lacs et lagunes d'eau douce, bien qu'il existe également des espèces marines.
- Elles se présentent souvent sous forme de formes unicellulaires flagellées qui forment des colonies.
- **Xanthophyta ou algues jaune-vert** : les plus de 600 espèces d'algues jaune-vert se trouvent habituellement en eau douce, le plus souvent dans les marais, formant de petites colonies. De même, la plupart des algues appartenant à ce groupe possèdent deux flagelles qui apparaissent aux deux extrémités de la cellule.

- **Dinophyta** : ces algues ont deux flagelles situés entre deux sillons entre les plaques. Environ la moitié d'entre elles sont photosynthétiques ou mixotrophes, mais de nombreuses autres vivent en symbiose avec des champignons et même d'autres types d'algues. Ils sont pareillement connus pour polluer les eaux dans certaines conditions climatiques.

- **Bacillariophyta ou diatomées** : elles se développent principalement dans les eaux douces et salées et même sur les terres humides.
- En mer, on les trouve généralement dans les régions à basse température, nageant librement.
- Cette espèce d'algues constitue, avec les dinoflagellés ou dinophytes, les principaux constituants du phytoplancton.
- Fait curieux, les diatomées planctoniques sont responsables de près d'un quart de la photosynthèse réalisée sur notre planète.

Les champignons microscopiques

- L’organisation cellulaire des champignons est appelée le **thalle**.
- Chez les champignons microscopiques, le thalle peut être unicellulaire (levures) ou filamenteux (moisissures).
- Certaines levures sont toutefois capables de former des structures filamenteuses (Pseudomycélium) dans certaines conditions.
- Les levures ont une taille généralement comprise entre 10 et 50 µm.
- Leur forme peut être sphérique, ovoïde, allongée, cylindrique… Leur thalle est dit lévuriforme.



Aspergillus

Epidermophyton floccosum

- Les moisissures sont pluricellulaires : les filaments, plus ou moins ramifiés, sont appelés hyphes.
- L’ensemble des hyphes constitue le mycélium.
- Chez les Phycomycètes, les cellules ne sont pas séparées par des cloisons transversales : le thalle est dit coenocytique (ou « siphonné »).
- Chez les Septomycètes, le thalle est cloisonné (ou « septé »).
- Dans ce cas, des perforations assurent la communication entre les cellules.

Parasitologie: Généralités et définitions

- **1. Parasitisme et Parasite :** Le parasitisme est un contact particulier entre deux êtres vivants : le parasite et son hôte.

- De la forme libre indépendante au parasitisme, forme de contact nécessaire et dépendante, divers intermédiaires sont à distinguer :

✓***La vie libre :*** l'organisme peut subvenir par lui-même à ses besoins métaboliques.

✓***Le saprophytisme :*** l'organisme se nourrit de matières organiques ou végétales en décomposition dans le milieu extérieur.

✓***Le commensalisme :*** l'organisme se nourrit de matières organiques sur un être vivant (milieu buccal, intestin) sans entraîner de troubles ou de spoliations chez son hôte.

- ***La symbiose :*** les êtres vivent en étroite collaboration dans une association bénéfique aux deux parties (équilibres des flores intestinales ou vaginales).
- ***Le parasitisme :*** l'organisme parasite vit aux dépens d'un hôte qui lui fournit un biotope et/ou des éléments nutritifs nécessaires à sa survie, cet hôte en pâtissant de façon plus ou moins grave.
- ***la prédation :*** association entre deux individus dont le prédateur (ex : lion,
- panthère, loup…) tue un autre, la proie (ex : antilope, buffle, gnou, lièvre…)
- pour assurer sa subsistance.

- **Le parasite est ainsi défini comme un être vivant animal ou champignon (règne des Fungi) qui pendant une partie ou la totalité de son existence vit aux dépens d'autres êtres organisés (hôtes).**

2 Différents modes de parasitisme

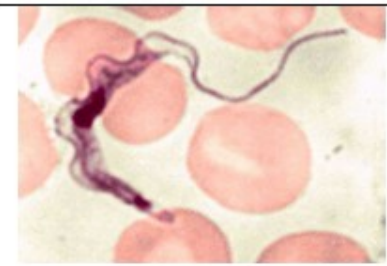
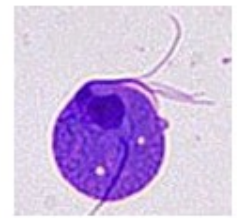
- ***- Parasitisme accidentel:*** Certains animaux libres, comme les myriapodes (mille-pattes), les larves d'insectes sont capables de passer chez un hôte, et causer des troubles. Ils sont désignés sous le nom de parasites accidentels.
- ***- Parasitisme facultatif:*** Les parasites facultatifs sont des êtres vivants animaux ou végétaux qui vivent normalement dans les matières organiques en décomposition et, qui dans certaines conditions du milieu (plaie, contusion…) peuvent passer de la vie libre à la vie parasite (ex : larves de certaines mouches se développant habituellemnt sur des cadavres)

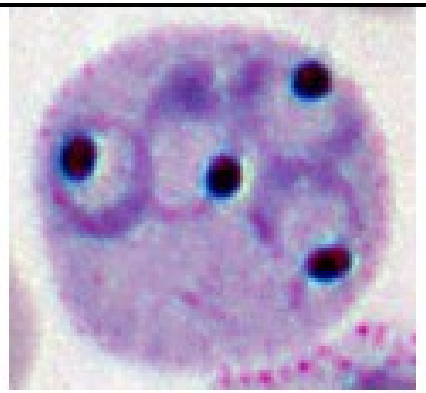
- ***Parasitisme obligatoire:*** Ce sont des individus qui dépendent étroitement de leur hôte pour leur subsistance et sont alors incapables de mener une vie libre en dehors de l'hôte (ex : ascaris, ténia, puce, pou…).
- Parmi les parasites obligatoires, on distingue :

❑ **Parasites temporaires** (ex : moustiques, taone, tiques) : ce sont des parasites qui après avoir pris leur repas quittent leurs hôtes.

Les protozoaires

- Les protozoaires sont des organismes unicellulaires hétérotrophes, dont la structure est proche de celle des cellules animales.
- Dépourvus de paroi, leur membrane plasmique est donc directement au contact du milieu extérieur, dans lequel ils doivent puiser leurs nutriments.
- Les protozoaires sont extrêmement diversifiés tant au niveau des structures cellulaires que du point vue écologique.
- La classification des protozoaires est complexe. Seuls quatre groupes importants sont abordés ici.

GROUPES	Exemples	Photographies
Rhizopodes Les **amibes** forment des prolongements cytoplasmiques, les **pseudopodes**, servant à la locomotion et à la nutrition.	*Entamoeba histolytica* et *E. coli*, responsables de diarrhées et de douleurs abdominales, suite à la consommation d'eau contaminée.	 **Figure 8 :** *Entamoeba histolytica*
Flagellés Ils possèdent un ou plusieurs **flagelles** permettant leur déplacement.	*Trypanosoma*, responsable de la maladie du sommeil. *Leishmania*, parasite intracellulaire qui envahit surtout les globules blancs et les organes lymphoïdes (rate, moëlle rouge, ganglions lymphatiques). *Trichomonas vaginalis*, responsable d'infection urogénitales (leucorrhées). *Giardia lamblia*, parasite intestinal responsable de diarrhées.	 **Figure 9 :** *Trypanosoma brucei*  **Figure 10 :** *Trichomonas vaginalis*
Ciliés (ou « infusoires ») Les cellules sont recouvertes de **cils** dont les battements permettent la locomotion, apportent les particules alimentaires et renouvellent le dioxygène.	Les **paramécies** occupent de nombreux milieux, notamment les eaux stagnantes. Ce sont de grandes cellules (>150 µm) avec deux noyaux, (un petit et un grand). *Balantidium coli* est responsable de dysenterie.	 **Figure 11 :** *Paramecium caudatum*

Sporozoaires Ce sont des parasites intracellulaires, dont le cycle comprend plusieurs phases.	*Plasmodium falciparum*, agent du paludisme. *Toxoplasma gondii*, responsable de la toxoplasmose.	 **Figure 12 :** *Plasmodium vivax*

- **Parasites permanents** : certains parasites ne quittent jamais leur hôte (ex : pou , acariens agents de gales) ou ne se rencontrent dans le milieu qu'à l'état d'œufs (ascaris, ténia, oxyure…).
- **Parasites périodiques :** de nombreux êtres vivants sont parasites pendant une partie de leur existence :
  - - soit au stade adulte pour la puce, moustique, taon…
  - - soit au stade larvaire pour les larves d'*Oestrus ovis* chez le mouton ou les larves d'*Hypoderma bovis* chez le bovin…

- **Rapport des parasites avec leurs hôtes**

❖**Spécificité parasitaire**

- Il existe plusieurs types de parasites suivant leur degré de spécificité vis à vis de l'hôte :

✓**Parasites sténoxènes** (sténos : étroit ; xénos : hôte) : ce sont des parasites qui sont étroitement adaptés à un hôte unique ou à des hôtes appartenant à des groupes zoologiques voisins (ex : Babesia bovis parasite des hématies chez les bovins ; poux…).

✓**Parasites oligoxènes** (oligos : peu ; xenos : hôte) : certains parasites ont une spécificité parasitaire moins étroite et peuvent se rencontrer chez des hôtes appartenant à des espèces ou genres voisins (ex : Diphyllobothrium latum : ténia parasite de l'intestin grêle de l'homme, du chien et du chat).

- ✓ **Parasites euryxènes** (euryos : large ; xénos : hôte) : ils se caractérisent par une spécificité très lâche, et se rencontrent chez de nombreuses espèces animales (ex : larve du ténia *Echinococcus granulosus* parasite divers organes et tissus de nombreux mammifères (ovins, bovins, caprins, équins… y compris l'homme).

- La spécificité parasitaire varie également suivant les stades évolutifs d’un parasite : .
- ex : chez les Cestodes (vers plats segmentés), *Taenia saginata,* ver adulte spécifique, parasite exclusivement l’homme. .
- ex : chez les Trématodes (vers plats non segmentés), les formes larvaires de *Fasciola hepatica* (parasite du foie et des canaux biliaires chez les ruminants) évoluent chez une espèce de mollusque gastéropode,

- **Action des hôtes sur les parasites**

- Le parasite exerce diverses actions pathogènes sur l’organisme de l’hôte, mais ce dernier exerce aussi une influence importante sur le parasite par rapport à sa croissance, sa taille ou son évolution. Ex : influence sur la taille : le ténia Diphyllobothrium latum, mesurant plusieurs mètres de longueur dans le tube digestif de l’homme n’atteint que 20 à 40 cm dans l’intestin grêle du chat mais conserve toutefois sa morphologie générale.

- ***Ex : influence sur l'évolution*** : la larve du cestode Dipylidium caninum (parasite du chien au stade adulte) ne peut poursuivre son évolution qu'après la mue de la larve de la puce qui l'héberge en nymphe puis en adulte.
- ***Ex : influence des hormones sexuelles de l'hôte*** : la maturité de la puce du lapin Spilopsyllus cuniculi dépend du cycle hormonal de l'hôte. En effet, les ovaires de la puce ne mûrissent que chez la lapine en

- **Habitat ou localisation des parasites**

- Selon la localisation, on distingue :
- **– les ectoparasites ou parasites externes (ex : puce, tique, pou…)** vivant à la surface de la peau.
- **– les endoparasites ou parasites internes (ex : ténia, ascaris, kyste hydatique, strongles digestifs et respiratoires, grande douve du foie…)** vivant dans les divers tissus et les cavités profondes de l’organisme.
- Certains parasites subissent dans l’organisme des migrations à l’état larvaire lorsque les conditions du milieu interne leur sont défavorables (ex : les larves d’ascaris quittent leur habitat électif et se disséminent dans divers points de l’organisme).

- **Nutrition**
- Les modes de nutrition des parasites sont variables : Les parasites pourvus d’un tube digestif (ex : nématodes ou vers ronds) s’alimentent en capturant les produits de la digestion (chyme intestinal).
- Les éléments nutritifs sont assimilés grâce aux enzymes sécrétés par les parasites. Certains parasites dépourvus de tube digestif (vers plats : cestodes et trématodes) se nourrissent par osmose.
- L’alimentation des parasites est très variée : certains parasites sont hématophages (ex : tique, puce, moustique, grande douve du foie…), d’autres sont histophages (ex : acariens agents de gales , petite douve du foie…) et se nourrissent de tissus ou de cellules desquamées.

- **Reproduction**
- Il existe différents modes de reproduction chez les parasites :
- **a) chez les métazoaires (êtres pluricellulaires)**
- La multiplication agame (sans gamêtes) se fait par **bourgeonnement** de la larve chez certains cestodes et tous les trématodes.
- Ce mode de reproduction se rencontre également chez les cestodes adultes : le ténia se développe par bourgeonnement des segments puis différenciation des organes génitaux dans les segments.
- D'autres parasites se reproduisent par parthénogénèse comme *Strongyloïdes spp* où la femelle se reproduit sans l'intervention du mâle.
- L'hermaphrodisme (sexes réunis) est fréquent ches les cestodes et la plupart des trématodes.
- En revanche, les nématodes (vers ronds) sont dioïques (sexes séparés) et se reproduisent par séxualité ou gamétogonie.

- **b) chez les protozoaires (êtres unicellulaires)**
- La majorité des protozoaires se reproduisent par multiplication asexuée (division binaire, schizogonie ou parfois par bourgeonnement).
- Outre la forme asexuée, certains protozoaires présentent la forme de reproduction sexuée (ex : sporozoaires-coccidies).
- Au cours de leur évolution, un grand nombre de parasites est détruit dans le milieu extérieur par des ennemis divers, par des facteurs climatiques défavorables ou meurent lorsqu’ils ne rencontrent pas d’hôtes favorables.

- Pour pallier à toutes ces pertes, les parasites sont doués d'une grande fécondité à l'état adulte comme à l'état larvaire (ex : Toxocara canis pond plusieurs centaines d'œufs dans le tube digestif du chien ; *Taenia saginata*, parasite de l'intestin grêle de l'homme, peut pondre plus de 100 millions d'œufs par an).
- La grande capacité de reproduction des parasites constitue un caractère favorable à leur conservation.

- **Le parasite ou agent pathogène**

➢ **L’hôte définitif (HD)**

- C’est par définition l’être vivant qui héberge la forme adulte du parasite.
- Ce ne sera pas toujours l’homme en pathologie médicale (hydatidose-cysticercose), ou l’animal en pathologie vétérinaire.
- Cependant dans le paludisme, bien que les formes sexuées se développent chez l’anophèle, du point de vue pratique épidémiologique (et non parasitologique), on considère l’homme comme HD des Plasmodium, ce qui est évidemment un abus de langage.

➢L’hôte intermédiaire (HI)

C’est l’être qui héberge le parasite sous sa forme non sexuée.

Pour parler d’HI proprement dit, il faut que le parasite exige le passage chez cet hôte pour assurer sa maturation ou une véritable multiplication et souvent les deux.

Les formes infestantes n’apparaissent qu’au terme du passage biologiquement indispensable, chez cet hôte intermédiaire.

Ces HI peuvent se différencier en:

- • HI passifs.
- Ils se contentent d’héberger la forme infestante ou ses stades antérieurs autres que la forme adulte sans aller au devant du réservoir de parasite pour contracter ce parasite, ni vers l’hôte réceptif pour lui transmettre les formes infestantes.
- Ex. mollusques pour les douves ou les shistosomes; cyclops pour la filaire de Médine; bœuf ou porc pour les ténias.

- **HI actifs.**

Non seulement ils hébergent le parasite en développement, mais ils vont au devant du réservoir de parasite pour contracter le parasitisme et vers l’hôte réceptif pour le lui transmettre ou le lui inoculer.

Ces HI sont des vecteurs (glossine pour la maladie du sommeil, moustique pour la filaire de Bancroft, taon pour la filaire Loa loa).

- **Les vecteurs**
- Ce sont les agents transmetteurs des parasites.

✓ On peut différencier les vecteurs biologiques indispensables au cycle vital du parasite qui assurent maturation ou multiplication. Ce sont les HI actifs (athropodes hématophages).

✓ Des vecteurs purement mécaniques qui ont un simple rôle phorétique (transport) non indispensable pour le cycle vital du parasite (ex. mouches: transport de

- **Le réservoir de parasites (RP)**
- C’est le biotope dans lequel ce parasite se maintient, assure sa survivance.
- D’une façon générale, en dehors d’un milieu extérieur (sol: RP tellurique) ce sera un hôte définitif qui héberge le parasite.
- Conditions d’efficacité.
- Ces RP ne seront efficaces, donc dangereux sur le plan épidémiologique, que s’ils remplissent certaines

- il doit y avoir un relatif équilibre entre le parasite et son hôte;
- ils doivent se tolérer mutuellement (affection inapparente ou discrète);
- ils doivent être en abondance suffisante;
- ils doivent permettre le contact avec les éléments nécessaires du cycle, vecteur, hôte réceptif, hôte intermédiaire selon le type de cycle.

- Selon leur nature on pourra différencier 3 grands types de RP:

- ***RP humains.***

Dans le cas des affections strictement humaines, l'homme est bien entendu un réservoir de parasites.

Dans le cas des affections communes à l'homme et à l'animal, l'homme n'est souvent qu'un accident dans le cycle.

Un hôte accidentel ne peut pas être un RP. Il a un rôle épidémiologique nul (hydatidose humaine, trichinose humaine, Larva migrans: impasse parasitaire).

- **RP animal.** Dans la majorité des zoonoses, maladies communes à l’homme et aux animaux, ces derniers constituent les RP essentiel sur la plan épidémiologique.

Il peut y avoir plusieurs réservoirs de parasites fonctionnant dans des conditions écologiques différentes:

- soit des animaux domestiques, ils sont proches de l’homme, les contacts sont donc favorisés, on ne peut les abattre systématiquement: nécessité de les traiter.
- Seul avantage, ils sont facilement accessibles pour dépister les animaux atteints.
- soit des animaux sauvages, les contacts sont plus ou moins fréquents. Leur destruction est souvent plus difficile car ils sont peu accessibles.
- Les RP sauvages tolérant bien leur parasitisme sous forme d’affection inapparente constituent des RP de base. Ex. rongeurs sauvages dans les leishmanioses cutanées.

- ***RP telluriques.***

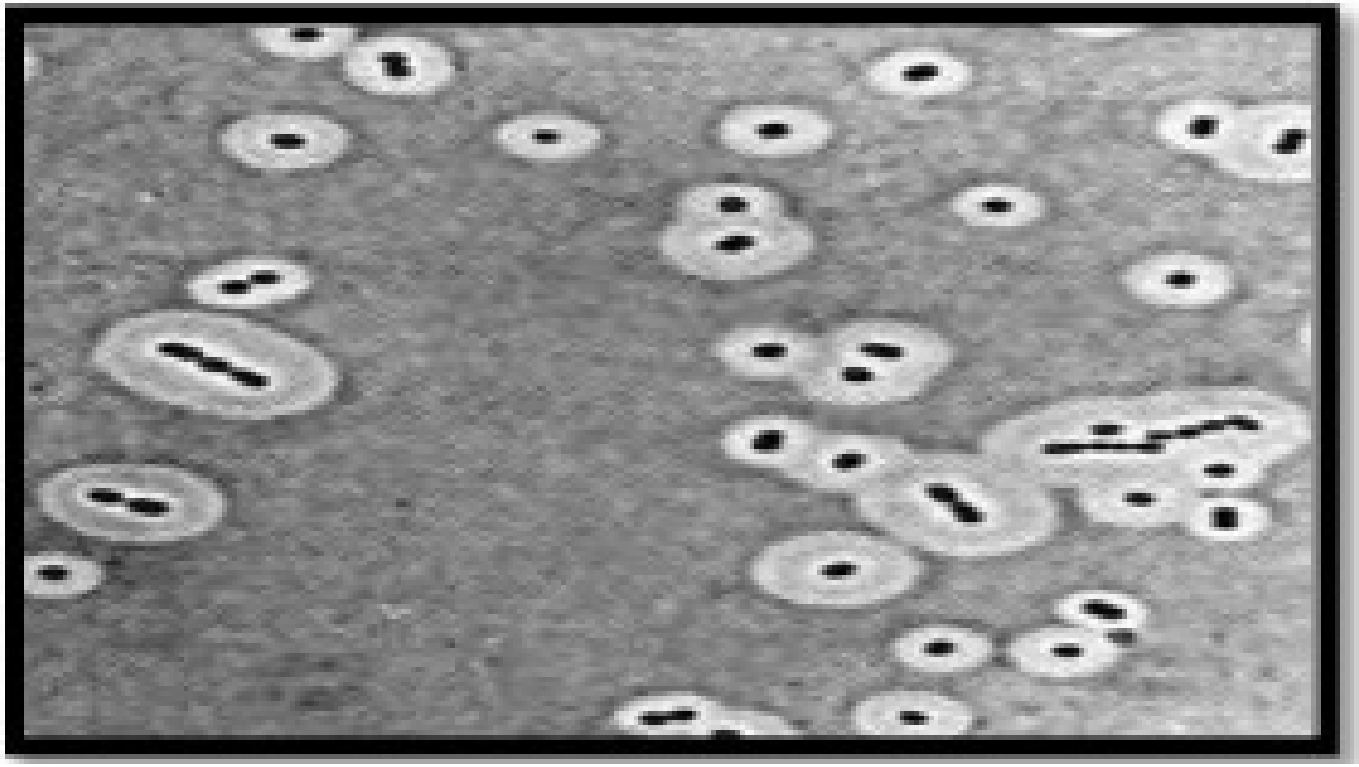
- Enfin, le sol peut constituer un RP en particulier dans certaines mycoses, pour quelques dermatophytes et quelques formes de résistance d’helminthes: œufs d’ascaris.

Techniques d'études et d'observation de cellule bactérienne

- La mise au point du premier microscope par **Antony Van Leeuwenhoeck** au cours du XVIIème siècle marque le point de départ de la microbiologie.
- L’appareil utilisé, constamment amélioré depuis, permet avec des grossissements pouvant aller jusqu’à 2500 (1000 étant l’utilisation courante) d’observer des structures dont la taille est de l’ordre de 1µm, Divers procédés peuvent être utilisés :

- **L’observation à l’état frais;**
- entre lame et lamelle de bactéries en milieu liquide et sa variante, la coloration à l’encre de Chine (pour la mise en évidence de la capsule). Les capsules correspondent au halo clair entourant les corps bactériens en noir.

Etat frais



Coloration à l’ancre de chine

- **L'observation de frottis séchés, fixés et colorés: (coloration de Gram et de Ziehl Nielsen).**

- Les frottis sont examinés à l’immersion en plaçant une goutte d’huile spéciale entre la lentille de l’objectif et la préparation, afin d’obtenir une image plus nette.
- Tout cela concerne la microscopie photonique où on utilise le rayonnement lumineux.
- Pour observer des structures de l’ordre de 5 nm à 10 nm, on utilise la microscopie électronique.
- Certaines structures peuvent retenir ou laisser passer les électrons. Cette approche nécessite ou non la fixation de l’échantillon.

- ***Mycobacteriurm tuberculosis*** est une bactérie qui ne montre pas de mobilité car sa structure ne présente pas d'extensions (cils ou flagelles) qui stimulent son déplacement.
- Elle peut survivre dans des excréments de coquerelle pendant 8 semaines, dans des crachats sur un tapis (19 jours) et sur du bois (plus de 88 jours), dans de la terre humide ou sèche (4 semaines) et dans l’environnement pendant plus de 74 jours (et peut-être même plus

- Il peut survivre dans des excréments de coquerelle pendant 8 semaines, dans des crachats sur un tapis (19 jours) et sur du bois (plus de 88 jours), dans de la terre humide ou sèche (4 semaines) et dans l’environnement pendant plus de 74 jours (et peut-être même plus longtemps dans les excréments) s’il est protégé de la lumière.

Coloration de Ziehl-Neelsen

- La coloration de Ziehl-Neelsen est une méthode de coloration donnant la possibilité l'identification des mycobactéries au microscope.
- La coloration de Ziehl-Neelsen est une méthode de coloration donnant la possibilité l'identification des mycobactéries au microscope.
- Elle fait partie des colorations qui mettent en évidence l'acido-alcoolo-résistance, caractère essentiel des mycobactéries, en prenant en compte la difficulté de pénétration des colorants.

- Ce type de coloration comporte trois temps :

✓ l'application d'un colorant énergique à chaud ou à froid ;

✓ les décolorations successives par un acide fort puis à l'alcool à 90° ;

✓ une recoloration de contraste.

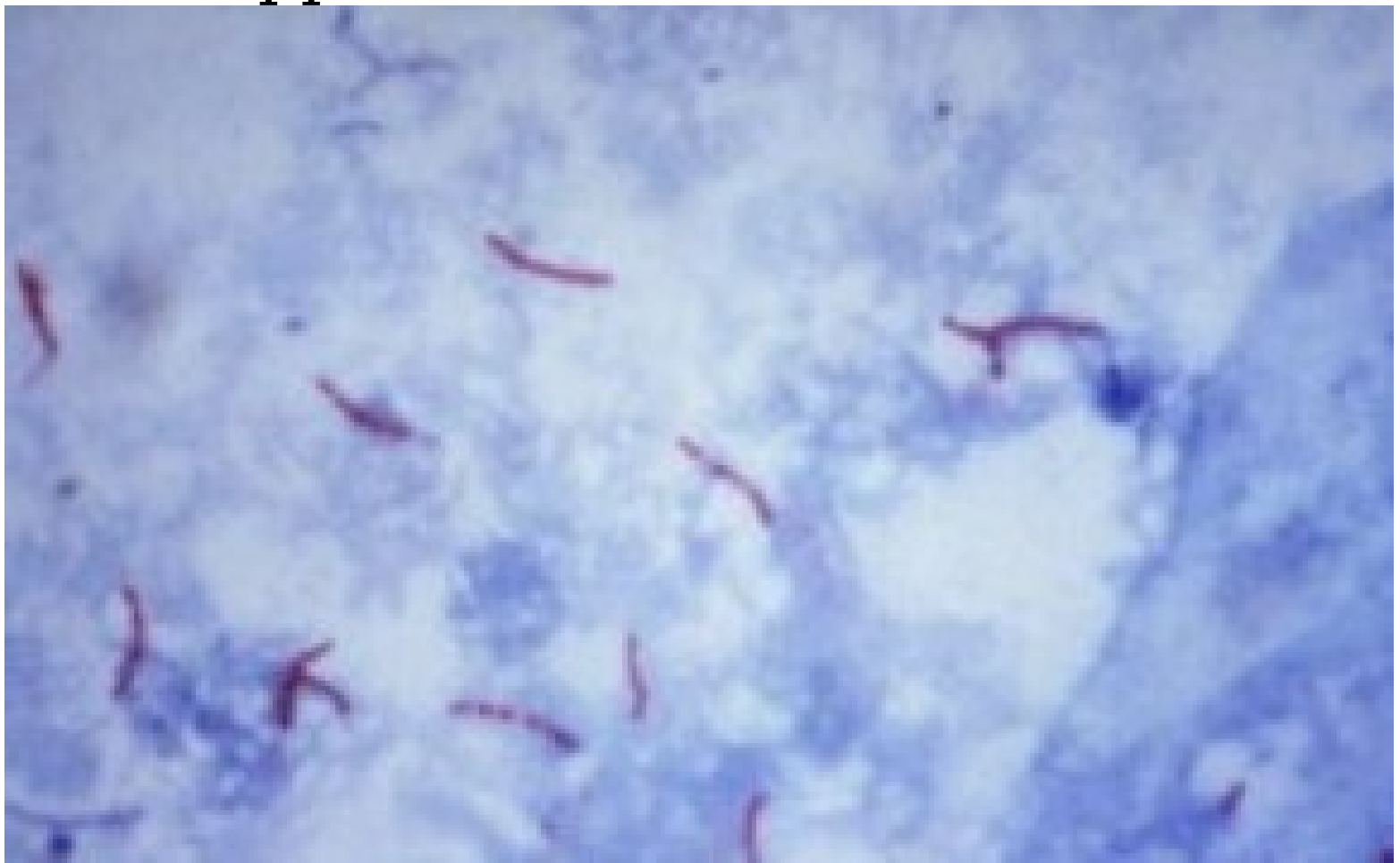
- ***Mycobacterium tuberculosis*** par la coloration de Ziehl-Neelsen
- **1er temps : coloration par la fuchsine à chaud**

➢ On recouvre le frottis d'un papier filtre imprégné de fuchsine de Ziehl.

➢ Chauffage à émission de vapeur pendant dix minutes au moins, en veillant à ne pas laisser sécher le papier.

- **2e temps : décoloration**
- Trempage de la lame deux minutes dans une solution d'acide, suivi d'un rinçage.
- Trempage la lame cinq minutes dans l'alcool à 90°, suivi d'un rinçage.
- **3e temps : recoloration**
- On recouvre la lame pendant deux minutes d'une solution de bleu de méthylène, puis on rince.

- L'observation s'effectue au microscope optique, avec objectif à immersion.
- Les mycobactéries apparaissent alors comme des bacilles rouges



- **NB:**

- La technique décrite ici est la technique classique de référence. Cependant, elle est de moins en moins utilisée à cause des risques qu'elle fait prendre au manipulateur.
- Les colorants tels que la fuchsine sont hautement toxiques et cancérigènes, tout spécifiquement quand ils sont utilisés à chaud (à cause des vapeurs).

Observation microscopique des bactéries après coloration de GRAM

- La coloration des bactéries est un moyen d'augmenter leur contraste de manière à mieux les observer en microscope à fond clair.
- Dans les conditions normales, **les procaryotes ont en général un pH intracellulaire neutre** et une surface cellulaire globalement chargée négativement.
- Ceci explique l'efficacité des colorants basiques pour l'observation de la morphologie bactérienne.
- La coloration peut s'appliquer :
- soit sur des cellules vivantes en utilisant des colorants dilués;
- soit sur des cellules tuées par FIXATION en utilisant des colorants concentrés.

- Toutes les techniques de coloration sur des bactéries tuées requièrent trois étapes principales :

- La préparation du frottis
- La fixation
- La coloration proprement dite :

1. Préparation du frottis

« Un frottis c'est l'étalement en couche mince d'un liquide biologique sur une lame de verre ».

Pour ce faire :

1. Notez la référence de la bactérie échantillon sur un coté d'une lame parfaitement propre et dégraissée.
2. Mettez quelques gouttes d'eau distillée stérile sur la lame.
3. Prélever stérilement à l'aide d'une anse de platine une parcelle d'une colonie bactérienne poussée sur milieu gélosé.
4. Faites émulsionner cette colonie dans les gouttes d'eau sur lame.
5. Les frottis doivent être étalés en couche mince et régulière pour bien séparer les cellules bactériennes, puis séchés ;

   5.1. Etalement : Etalez en couche mince par l'anse avec des mouvements circulaires.

   5.2. Séchage : Le séchage est effectué à l'aire libre dans la zone stérile jusqu'à ce que le frottis présente un aspect mat.

2. Fixation du frottis sec

Cette étape a pour but :

- De tuer les bactéries ; ce qui rend leurs membranes plus perméables aux colorants.
- De fixer la structure cytologique des bactéries et donc fixer la forme sans l'en altérer.
- De faire coller les bactéries à la surface de la lame.

La fixation s'effectue soit par **l'alcool flambé**, soit **par la chaleur**

Fixation par chaleur

La lame, tenue par une pince (frottis situé sur le dessus) est passée 3 ou 4 fois dans la flamme du bec Bunsen.

Laisser refroidir avant d'entreprendre une coloration.

Principe

C'est la coloration de base en bactériologie, elle est **dite différentielle** car elle permet de différencier et **de classer** la majorité des **bactéries en 2 grands groupes** (les GRAM + et les GRAM-), selon la différence de la composition de leur paroi cellulaire ; et par conséquent selon leur aptitude à fixer ou non un colorant.

Cette distinction (**GRAM + ou GRAM -**) est fondamentale pour l'identification bactérienne. Pour ce faire :

- ✓ ***Le violet de gentiane*** se fixe sur des composants cytoplasmiques et après ce temps de coloration, toutes les bactéries sont violettes.
- ✓ ***L'iode lugol*** renforce cette coloration par la formation d'un complexe avec le violet de gentiane
- ✓ Les lipides sont très solubles dans ***l'alcool,*** en effet :
  - ➲ Chez les bactéries à **GRAM négatif,** dont la paroi est riche en lipides, pauvre en peptidoglycane, l'alcool dissout ces lipides ce qui aboutit à une augmentation de la perméabilité de la paroi. L'alcool pénètre facilement au **cytoplasme et** le **décolore** (***l'alcool*** **dissout** ***le violet de gentiane*****).**
  - ➲ Chez les bactéries **à GRAM positif**, dont la paroi est pauvre en lipides, riche en peptidoglycane, ce dernier constitue une barrière imperméable à l'alcool et le **cytoplasme demeure alors coloré en violet.**
- ✓ ***La fuchsine*** est utilisée afin de pouvoir observer les bactéries à GRAM négatif qui sont devenues incolores.
  - ➲ Les **GRAM négatifs** se recolorent en **rose.**
  - ➲ Les **GRAM positifs** gardent leur couleur **violette**.

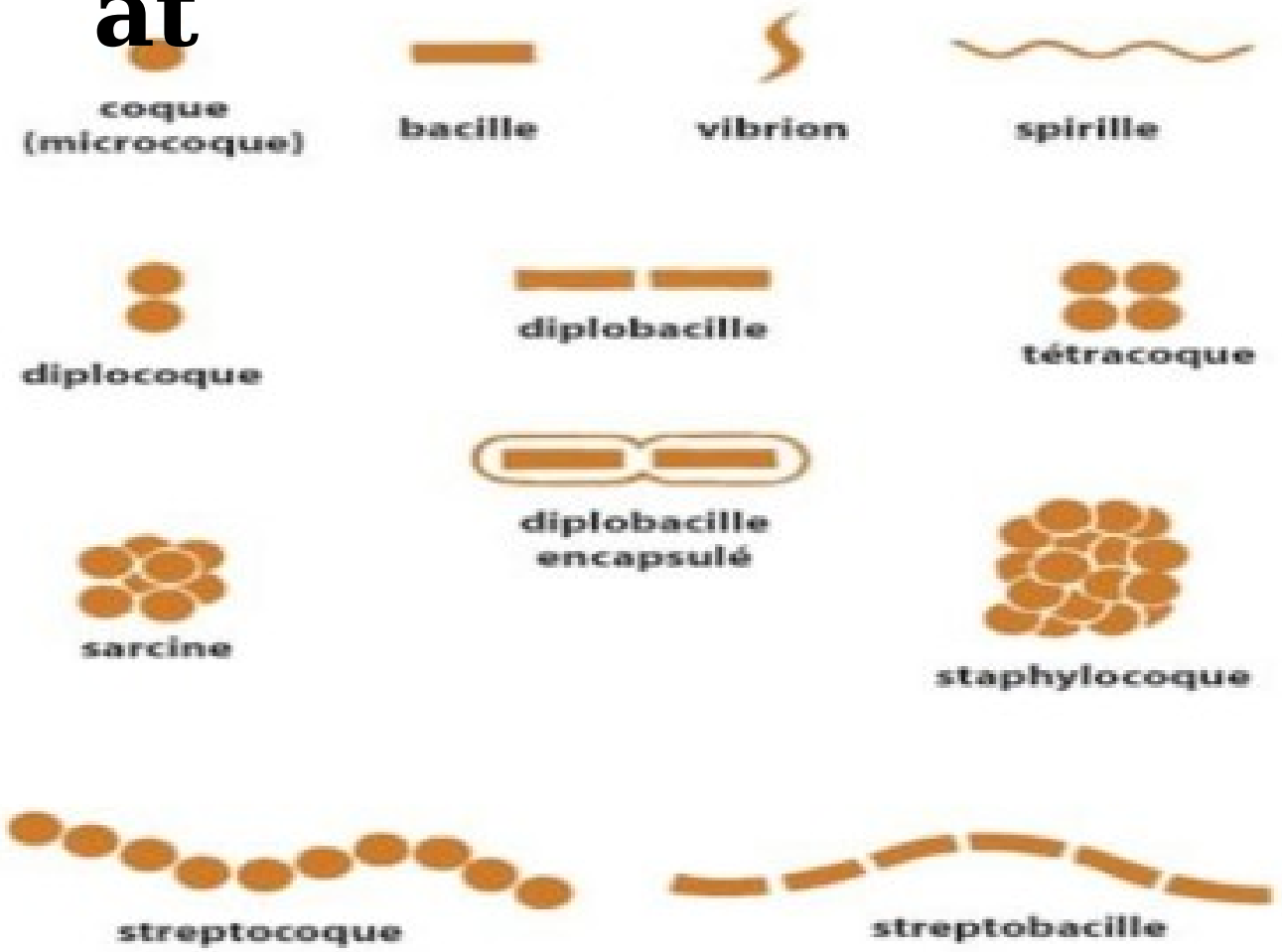
Mode opératoire

Sur le frottis fixé et refroidi :

- Faire couler la solution de ***Violet de Gentiane*** sur la lame jusqu'à ce que tout le frottis soit recouvert; laisser en contact ***1 minute***.
- Jeter le colorant et finir de la chasser par la solution de ***Lugol*** ; laisser le agir environ ***1 minute***.
- Jeter le Lugol et faire couler ***l'alcool*** goutte à goutte pendant ***10 secondes*** **sur la lame inclinée**;
- Rincer immédiatement à l'eau (ne pas diriger le jet d'eau directement sur le frottis).
- Recouvrir la préparation de la ***Fuchsine*** (ou Safranine), laisser agir ***1 minute***.
- Rincer abondamment la lame à l'eau distillée, ou à l'eau du robinet jusqu'à élimination du colorant en excès.
- Sécher la lame au dessus de la flamme d'un bec Bunsen, ou la sécher délicatement entre deux feuilles de papier filtre fin (ou buvard), sans frotter.
- Examiner au microscope en utilisant l'objectif à immersion (x100).

Résultat

Morphologies et modes de regroupent bactériens



Notions de mycologie

- ***1 - Mycologie (Levure et moisissure)***
- La mycologie est l’étude des mycètes ou champignons.
- On distingue trois groupes majeurs de champignons : **Les moisissures (champignons filamenteux)**, **Les levures (unicellulaires)** et Les **champignons macroscopiques**;
- Environ 100 000 espèces de Mycètes ont été décrites à ce jour, mais la majorité sont des microorganismes incultivés et les estimations des mycologues de leur nombre total vont de 0,8 à 5 millions.

- Riches en enzymes, ils peuvent recycler les parties les plus dures des végétaux.
- Certains d’entre eux sont symbiotiques et développent des mycorhizes avec les racines des plantes.
- D’autres sont utiles à certains insectes pour dégrader la cellulose et la lignine qui leur servira de nourriture, aussi ils servent de nourriture aux insectes mycétophages et à leur larves.
- L’homme s’en sert pour la fabrication des médicaments (antibiotiques, vitamines), d’aliment (pain, fromages), d’enzymes…

- Les champignons sont des eucaryotes saprophytes.
- Ils se nourrissent de matières organiques en décomposition qu'ils transforment en matière minérale, par absorption à travers une membrane.
- Une vie commensale pour la majorité.
- Ils vivent en association symbiotique avec d’autres organismes.
- Mais certains sont parasites et hautement pathogènes pour l’homme, les animaux et les plantes causant des pertes économiques considérables aux agriculteurs.
- Ils vivent en aérobiose, à l’exception de ceux du le tube digestif des mammifères.
- Les levures sont anaérobies facultatives.

- Les mycètes sont **mésophiles** : Température optimale de croissance entre 25 et 35°C.
- Le maximum observé est de 62°C.
- Ils tolèrent des milieux acides 5.5<PH
- **Chimiohétérotrophes :** ils utilisent la matière organique comme source d'énergie d'électrons et de carbone.
- Ils oxydent la matière organique pour puiser l'énergie nécessaire à leur développement et croissance.
- Les molécules simples (acide aminé, monosaccharides) sont absorbées directement.
- Les molécules plus complexes sont hydrolysées à l'extérieur par un équipement enzymatique secrété ou associé à la paroi.

- Les champignons ont une paroi, principalement constituée de 10 à 20% de protéines, 80% de polysaccharides antigéniques : la chitine , de la cellulose des mannanes ou des glucanes.
- La majorité, sont immobiles à l’exception de quelques espèces aquatiques.
- L’appareil végétatif des mycètes est appelé un **thalle**.
- Le **thalle** peut être constitué d'une seule cellule (levures).
- La plupart des champignons ont des thalles pluricellulaires constitués d'un mycélium et d'organes de fructification (les moisissures).

- Les levures sont unicellulaires et se reproduisent par **bourgeonnement?** mais également par **fission binaire** ou **scissiparité** comme ***Schizosaccharomyces pompe***.